



DESENVOLUPAMENT D'UN SISTEMA D'ESPECTROSCÒPIA D'IMPEDÀNCIA PER A MESURES AMB BIOSENSORS

Tesi de Màster Presentada a la
Universitat Politècnica de Catalunya

Aleix Guasch Martínez

Director: Ramon Bragós Bardia

Barcelona, Juny 2009

TAULA DE CONTINGUTS

AGRAÏMENTS	iv
1. INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS	1
1.1. Introducció: Projecte de Desenvolupament d'una Plataforma de Biosensors per a la indústria agrària.	1
1.2. Objectius	3
1.3. Metodologia.....	4
1.3.1. Tasques	4
1.3.2. Eines	4
1.4. Continguts dels Capítols.....	5
2.BIOSENSORS	7
2.1. Introducció	7
2.2. Tipus de Biosensors	8
2.2.1. Transductors Electroquímics.....	10
2.2.2. Mètodes d'Immobilització	11
2.3. Aplicacions	12
2.4. Immunosensor Impedimètric.....	13
3. CARACTERITZACIÓ DE BIOSENSORS MITJANÇANT ESPECTROSCÒPIA D'IMPEDÀNCIES ELECTROQUÍMIQUES.....	15
3.1. Idea d'Impedància	15
3.2. Espectroscòpia d'impedància.....	16
3.3. Models	18
3.4. Modelat de Biosensors	22
3.5. Extracció de les característiques inicials de disseny	23
4. DISSENY	25

4.1. Introducció	25
4.2. Disseny Hardware.....	28
4.2.1. AD5933.....	29
4.2.2. Caracterització de l'AD5933.....	34
4.2.3. Propostes per solucionar les limitacions.....	38
4.2.4. Solucions adoptades	42
4.3. Disseny del Sistema de Control	52
4.3.1. Propostes de disseny.....	52
4.3.2. Solucions adoptades	53
4.3.2.1. Drivers.....	54
4.3.2.2. Interfície d'Usuari	61
4.3.2.3. Blocs Principals	63
4.3.2.4. Ajust a Model.....	65
5. MESURES.....	69
5.1. Mesures de Validació.....	69
5.1.1 Resistències	69
5.1.1.1. Mesures de Diferents Valors	69
5.1.1.2. Mesures de Linealitat	72
5.1.1.3. Mesures de Soroll	73
5.1.2.1. Xarxa 1R - 1C.....	78
5.1.2.1. Xarxa R C – R	79
5.2 Mesures d'Aplicació.....	80
5.2.1 Mesures amb el Biosensor	80
5.2.2. Mesures de Glucosa	87
6. Conclusions i Perspectives de Futur	93
6.1. Conclusions	93
6.2. Perspectives futures	94
7. BIBLIOGRAFIA.....	95
8. ANNEXES	97
8.1. Esquema PSPICE	97
8.2. Layout ORCAD	98
8.3. Llista de components i pressupost placa	99
8.4. Diagrames de LabView	101
8.5. Codis funcions Matlab	105

8.6. Imatges dels histogrames de soroll per cada freqüència	108
8.7. Selecció de l'Amplificador Operacional	113
8.8 Implementació física.....	118

AGRAÏMENTS

Li agraeixo cordialment al meu tutor, Ramon Bragós, per tota l'ajuda aportada per dur a terme la meva tesi de màster de forma satisfactòria i lúdica.

Als companys de laboratori per l'aportació dels seus coneixements i els moments divertits passats.

També va dirigida a la meva família i amics per tot el suport durant tots aquests anys.

Aleix Guasch Martínez

1. INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

1.1. Introducció: Projecte de Desenvolupament d'una Plataforma de Biosensors per a la indústria agrària.

Amb la creixent industrialització de les empreses agroalimentàries, i en particular, de la indústria càrnia, es fa evident la necessitat de realitzar controls de qualitat més ràpids i precisos. El centre CRIC, amb la col·laboració d'altres centres especialitzats com IRTA, CSIC, CNM i la UPC, i l'empresa AROMICS, han entrat en un projecte de cooperació per tal de dissenyar un sistema de mesura de bacteries patògenes en els productes carnis. Aquest projecte es desenvolupa dins el programa 'Avanza I+D' del 'Ministerio de Industrias, Comercio y Turismo'.

El projecte parteix de la necessitat que existeix actualment de miniaturitzar els sistemes d'anàlisi en aplicacions medi ambientals, agroalimentàries o clíniques. Existeix, d'altra banda, una necessitat de dissenyar sistemes portàtils, ràpids i específics que permeten detectar substàncies que afecten la salut pública, automatitzar el seguiment de paràmetres que poden influir en la qualitat de productes agroalimentaris i millorar el sistema de producció.

La infecció per agents patògens com *Escherichia Coli*, *Salmonella Typhimurium* o *Legionella pneumophila*, que són responsables d'infeccions greus, ocasionat per l'emmagatzemament, transport i altres processos del producte, imposa la necessitat de realitzar un analitzador microbiològic per detecció de patògens per la indústria càrnia, a partir de mostres de les peces dels escorxadors.

Els mètodes tradicionals de detecció són llargs i tediosos, entre 2 i 7 dies. Aquest procediment consta de 4 fases d'execució:

1. Pre-enriquiment, consisteix en fer un creixement dels organismes que es volen detectar a partir del raspat de la superfície de la peça en determinats punts.
2. Enriquiment selectiu de l'organisme a estudiar.
3. Aïllament d'aquest per l'estudi.

4. Proves per detectar l'organisme patogen.

Aquest tipus de procediment requereix múltiples passos, que poden durar entre un mínim de 16 h a 48 h en realitzar-se cadascun. Per tant, és poc apte per fer un anàlisi ràpid i directe. A més, necessita de personal especialitzat per realitzar la tasca.

Per tant, apareix la idea de realitzar una plataforma de biosensors per la indústria agroalimentària. El sistema ha de ser portàtil, ràpid i de baix cost i, que pugui dur a terme un control de qualitat en els productes agroalimentaris més eficient.

El projecte es divideix en diferents parts: el disseny del biosensor, on es porta a terme la realització de l'element detector a partir d'antígens-anticossos o enzims i l'element transductor, veure capítol 2 sobre biosensors per més aclariment; la instrumentació necessària que permet tractar els senyals generats pel biosensor, aquí intervé principalment la detecció per impedimetria o bé per amperimetria, veure capítol 3 per més informació; el disseny d'una interfície que permeti la interacció entre l'usuari i l'equip de mesura; finalment, la realització de proves de validació.

El sistema haurà d'adaptar-se a uns requisits especificats per tal de dur a terme la feina per al que estarà dissenyat. La taula 1.1 mostra un resum. Els requisits del instrument analític per la detecció de bacteries són: els dispositius analítics han de ser específics per poder distingir entre les diferents bacteries; han de poder detectar diferents analits; han de ser el més ràpids possible i prou sensibles per poder detectar les bacteries on-line i, si és possible, directament en mostres reals sense enriquir.

+ Límit de detecció Baix	Incorporació de poques bacteries, de 10^4 - 10^6 cfu/mL en una solució de 1 a 10mL
+ Selectivitat d'espècies	Seleccionar una espècie davant d'altres microorganismes
+ Selectivitat de cepes	Seleccionar una cepa dins una espècie de bacteries
+ Temps d'anàlisi	5 – 10 minuts per test
+ Precisió	5 – 7 %
+ Format	Automatitzat, compacte, portàtil, de baix cost.
+ Operació	No necessiti formació específica

Taula 1.1 Taula resum de les característiques del sistema a dissenyar.

Llavors, els diferents organismes participants al projecte defineixen un sistema global que permetrà realitzar la funció desitjada per la detecció de bacteries infeccioses. Els punts següents mostren la proposta i l'empresa que durà a terme la tasca:

- Realització d'un biosensor amb biomarcadors o elements de reconeixement (CNM-CSIC).
- Cel·la de mesura que contingui els elèctrodes d'un sol ús (CNM).
- Sistema de control de fluids per injectar la mostra (CNM).
- Disseny de la instrumentació de mesura (UPC-CRIC).
- Sistema de control i interfície d'usuari (CRIC).
- Proves de validació (AROMICS-IRTA).

Com es pot veure, és un sistema multidisciplinari que necessitarà de l'aportació de diferents àmbits d'especialització com són la Tecnologia Microelectrònica, la Biologia i la Biotecnologia, la Química Analítica, la Física, l'Enginyeria Electrònica i la Enginyeria Alimentària. Per aquest fet, existeix la participació dels diferents centres mencionats al principi.

En resum, l'objectiu del projecte conjunt es el desenvolupament i validació d'un analitzador microbiològic ràpid, sensible, manejable, fàcil d'utilitzar i de baix cost que permeti la detecció de patògens (p.ex. *E. Coli*) amb utilitat a la indústria càrnia. La detecció a temps d'aquests patògens tant a les granges com escorxadors i al llarg de la línia de producció permet assolir una major seguretat en els productes i minvar les pèrdues econòmiques.

1.2. Objectius

De tots els àmbits existents en el projecte global per al desenvolupament de l'analitzador bacteriològic, clarament, ens encarregarem de realitzar el disseny del sistema d'instrumentació electrònic de mesura que interactui amb el biosensor que detectarà l'element patògen.

Un cop caracteritzat el biosensor, l'objectiu del projecte es realitzar un sistema de mesura basat en espectroscòpia d'impedància. Es a dir, es dissenyarà un circuit específic que

permeti realitzar la mesura d'impedància del biosensor a una freqüència fixa o bé fent un escombrat freqüencial.

A més, es realitzarà el disseny de la interfície d'usuari que permetrà caracteritzar i utilitzar el sistema d'instrumentació. Aquest estarà format per una part de control que realitzarà el set up del sistema de mesura i, una part de visualització, que mostrarà les dades adquirides, en el format específic, per a la correcta interpretació de l'usuari.

1.3. Metodologia

En aquest apartat es defineixen les tasques que es realitzaran per dur a terme els objectius mencionats i les eines utilitzades en el procés del projecte.

1.3.1. Tasques

La primera tasca es l'assoliment teòric del que es un biosensor i les seves característiques; i l'espectroscòpia d'impedància i els mètodes de mesura electroquímics, més específicament la mesura impedimètrica.

La segona tasca, com es pot encertar, es l'anàlisi de les característiques del biosensor a utilitzar i el disseny d'un circuit electrònic que permeti realitzar la mesura impedimètrica.

El tercer pas comportarà la realització d'una interfície entre l'usuari i el sistema de mesura. Aquest estarà basat en fer una interfície entre el sistema de mesura i un PC d'àmbit general.

Finalment es realitzaran una sèrie de mesures de validació per tal de caracteritzar el sistema i donar-li la funcionalitat final. Aquestes mesures permetran determinar el correcte funcionament del disseny.

1.3.2. Eines

- **Orcad Capture CIS 9.2:** programari que permet realitzar l'esquemàtic electrònic del disseny, a més, de la seva simulació per obtenir resultats pròxims als reals.

- **Orcad Layout Plus 9.2:** programa que permet extreure els encapsulats i les connexions necessàries de l'esquemàtic, l'enrutament de les pistes i la disposició del diferents components per la realització física del circuit imprès.
- **MATLAB R2007b:** processador matemàtic basat en matrius que permet la representació, simulació i processat de dades i sistemes. S'ha utilitzat per simular diferents models d'impedància i tractament de les dades mesurades per la seva representació i validació.
- **LabView 8.2:** eina de programació que permet realitzar aplicacions software de forma gràfica. S'ha utilitzat per realitzar el disseny de la interfície gràfica que controla el sistema de mesura i permet la visualització de les mesures.

Per la depuració dels circuits electrònics implementats s'han utilitzat les diferents eines bàsiques de laboratori com fonts d'alimentació, oscil·loscopi i generadors de funcions. Per la realització de les plaques de circuit imprès prototip s'ha utilitzat el laboratori de química i l'estació de soldadura.

1.4. Continguts dels Capítols

Els dos capítols següents aporten el coneixement teòric necessari per entendre l'àmbit del projecte. El capítol 2 fa una petita introducció al món dels biosensors, explicant en què consisteix un biosensor, les seves característiques principals i aplicacions, per finalment, introduir el biosensor que serà utilitzat en el projecte. El capítol 3 està destinat a la caracterització d'impedàncies en la freqüència explicant la idea d'impedància, realització d'espectroscòpia d'impedàncies i la modelització de la impedància de materials biològics, s'explica el model del biosensor utilitzat i finalment s'extreuen les característiques de partida per realitzar el disseny.

El capítol 4 es el més extens. Aquest tracta el procés de disseny realitzat, començant per la part hardware i seguint pel sistema de control. El disseny hardware raona els passos i aspectes a tenir en compte en el procés de disseny del circuit electrònic per la mesura. En la part del sistema de control es comenten els passos seguits per la realització de la interfície gràfica implementada per caracteritzar el sistema i interactuar amb l'usuari.

En el capítol 5 es mostren les mesures fetes per tal de validar el projecte. Es divideix en dos parts, mesures de validació amb resistències i xarxes RC i, mesures d'aplicació, a on es mostren mesures amb el biosensor i mesures de Glucosa. Tancant la memòria amb el capítol d'annexos, on es mostra contingut complementari.

2.BIOSENSORS

2.1. Introducció

Un Biosensor és bàsicament un sensor que esta format per un element detector de naturalesa biològica (p. ex. enzims, anticossos o DNA) que respondrà a la substància o analit que es vol mesurar i un transductor fisicoquímic (p. ex. electroquímic, òptic o piezoelèctric) per tal de visualitzar un resultat.

Un transductor transforma un canvi observable (físic o químic) en un senyal mesurable, normalment en un senyal elèctric, la magnitud del qual depèn de la concentració d'un o varis compostos químics [1]. La figura 2.1 mostra l'estructura típica d'un biosensor. Apareix la mostra o analit a detectar, aquest farà una reacció amb l'element biològic, la reacció serà detectada pel transductor i transformada en un senyal elèctric que podrà ser adquirit i processat.

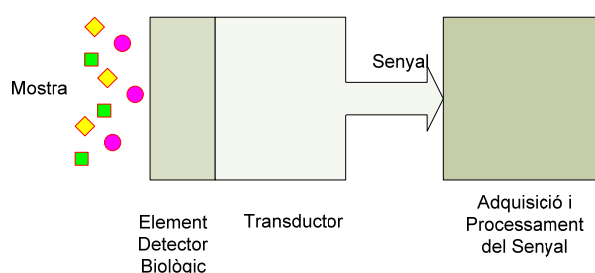


Fig. 2.1 Estructura de Biosensor.

El funcionament del biosensor consisteix en que un element biològic només detecta una substància, produint un canvi biomolecular i, llavors, el transductor realitza la transformació del canvi biomolecular en un senyal elèctric mesurable. A la figura 2.2¹, l'analit 1 no es detecta per l'element biològic, i no provoca cap canvi. Per una altra banda, l'analit 2 es detecta per l'element biològic provocant un canvi que es transforma pel transductor en un senyal elèctric [1,7]. Aquest funcionament confereix als biosensors la seva principal característica, la especificitat, ja que les reaccions biomoleculars poden ser molt selectives.

¹ Figura extreta de la tesi de doctorat d'Enrique Andrés Valera Cano [7].

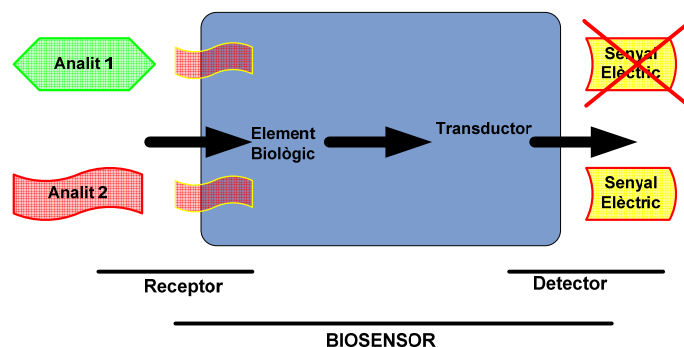


Fig. 2.2 Funcionament de Biosensor.

2.2. Tipus de Biosensors

Existeixen diverses maneres de caracteritzar un biosensor. Les més formals són; pel tipus de substància o analit, en funció de l'element biològic, pel transductor utilitzat o pel mètode d'immobilització. La figura 2.3² mostra una classificació en funció de l'element biològic i el tipus de transductor.

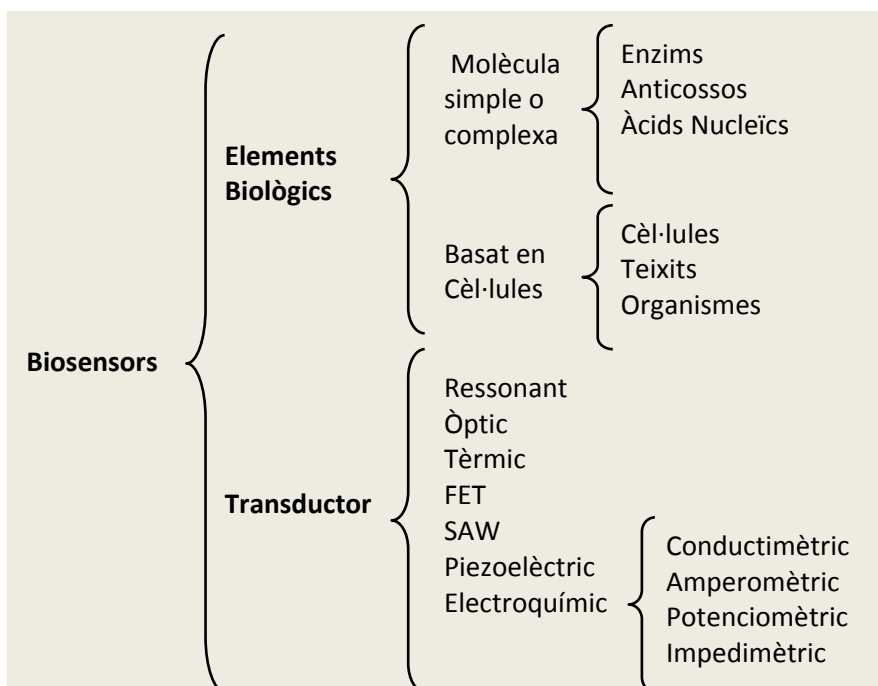
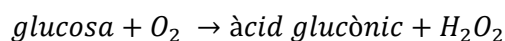


Fig. 2.3 Classificació de biosensor. Es poden classificar en funció de i) l'element biològic i ii) el tipus de transductor.

² Figura extreta de la tesi de doctorat d'Enrique Andrés Valera Cano [7].

L'element biològic aporta la selectivitat i l'especificitat al biosensor, per això ha de ser una substància que pugui atrapar un analit en particular i no els altres. Els elements biològics més utilitzats són els enzims i els anticossos. Aquests elements són la base del biosensor utilitzat per aquest projecte.

Els enzims són els elements biològics reactius més utilitzats per a la fabricació de biosensors. Són catalitzadors biològics per reaccions particulars, i es poden fixar ells mateixos a un substrat específic. Un exemple àmpliament estès, és el biosensor de glucosa, desenvolupat per Clark i Lyon al 1962. Aquest està basat en el fet que l'enzim d'oxidasa de glucosa catalitza l'oxidació de la glucosa. La reacció de la oxidació de la glucosa és[1]:



Es poden utilitzar diversos transductors per transformar aquesta reacció en un senyal mesurable, com un sensor de pH, que donarà la concentració d'àcid de la solució, o bé, un sensor de peròxid, mesurant la concentració de peròxid.

El major problema és que són biosensors cars, a causa de que els enzims són complexos d'aïllar i a vegades es tornen inestables quan els aïlles, i necessiten d'elements complementaris [1].

Els basats en anticossos, també anomenats immunosensors, permeten una gran selectivitat, ja que l'anticòs s'enganxarà amb l'antigen corresponent. Són molt sensibles, degut a l'afinitat de l'atracció entre anticossos i antígens.

Aquests permeten fer mesures directes (label-free) o bé indirectes (labelled). Els de mesura directa són més simples en la seva operació i permeten mesures en temps real, però ofereixen una no tant alta sensibilitat. En canvi els que són indirectes són més complexos però ofereixen una alta sensibilitat. Es caracteritzen per ser ràpids, permetre fer múltiples tests, no ser molt complexos, utilitzant instrumentació senzilla, i de fabricació econòmica [1, 7, 10].

D'altra banda, els transductors més utilitzats són els electroquímics. Aquests permeten la transducció dels canvis biomoleculars a senyals elèctrics de forma ràpida i són molt simples tècnicament. Permeten la fabricació en massa abaratint el seu cost. El principi de funcionament d'aquests transductors ve donat per que la majoria de reaccions químiques

consumeixen o produeixen ions o electrons que provocaran un canvi en les propietats elèctriques, que podran ser mesurades. Al punt següent es fa una explicació més extensa.

2.2.1. Transductors Electroquímics

N'existeixen quatre tipus bàsics:

Conductimètrics: Es mesura la conductivitat de la substància biològica situada entre dos metalls, estructura similar a la d'un condensador. Degut al contingut de ions en una solució es produeix conducció elèctrica. La magnitud de la conductivitat variarà en funció de la reacció química o bioquímica que es produeixi.

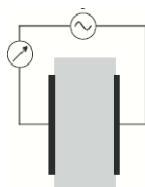


Fig. 2.4 Mesura conductimètrica basada en la idea de condensador.

Amperomètrics o Voltamètrics: La mesura es deguda a la variació dels electrons degut a un procés d'oxidació-reducció, en que s'alliberen portadors, i es mesura el corrent resultant. Coneixent el potencial d'oxidació-reducció, s'aplica aquest potencial i es mesura el corrent resultant. Són molt sensibles, ràpids i econòmics de fabricar. Per detectar el procés d'oxidació-reducció es pot fer servir la tècnica anomenada cíclica, a on s'aplica un senyal triangular. En la rampa creixen es detectarà un dels processos, mentre que en la decreixent apareixerà el procés contrari. Fig. 2.5

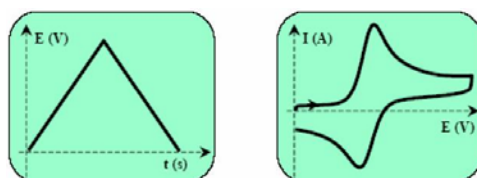


Fig. 2.5 Corbes d'excitació i mesura per ampèrmetria cíclica.

Potenciomètrics: Consisteix en la mesura de la diferència de potencial deguda a una reacció electroquímica entre un elèctrode i un elèctrode de referència. El principi de funcionament es la producció d'un potencial degut al canvi en la distribució dels electrons.

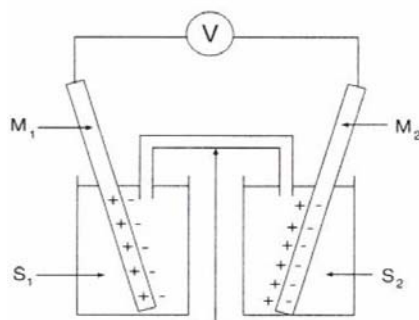


Fig. 2.6 Model de mesura potenciomètrica.

Impedimètric: Es basa en la mesura del canvi d'impedància elèctrica, degut a la variació de les propietats resistiva i capacitiva, produïda a la superfície del transductor. El canvi d'impedància es degut a l'addició de partícules biològiques al biosensor. Per a la construcció s'immobilitzen enzims, anticossos o àcids nucleïcs a la superfície del transductor, que seran els elements responsables de detectar la substància o analit pertinent. A més existeix un gran interès en aquest tipus de transductor, ja que permeten realitzar mesures directes (label-free) [10], a causa de que no necessiten reactius especials, abaratint el seu cost i agilitzant la mesura.

2.2.2. Mètodes d'Immobilització

Per tal de fer viable el biosensor es necessari immobilitzar el component biològic a la superfície del transductor. La immobilització pot ser transitòria, per un treball d'exploració amb un temps curt de mesura, o bé permanent. Depèn del tipus d'element biològic, de l'analit o substància a mesurar i el propòsit de l'estudi, afinitat, concentració o resposta dinàmica [1]. Existeixen diversos tipus d'immobilitzacions, aquí se n'anomenen tres:

Adsorció: és la més simple i involucra la mínima preparació. La immobilització es dèbil i es només útil per mesures transitòries. La unió es produïda per la formació de ponts de Van Der Waals. Fig. 2.7.a

Microencapsulat: és la primera tècnica utilitzada, i consisteix en mantenir el biomaterial darrera d'una membrana donant un contacte proper entre el biomaterial i el transductor. Fig. 2.7.c

Enllaç Covalent: consisteix en el disseny minuciós d'un enllaç entre un grup funcional del biomaterial a la matriu de suport (transductor o membrana) . Permeten fer immobilitzacions permanents i asseguren la fiabilitat de la mesura. Fig. 2.7.b

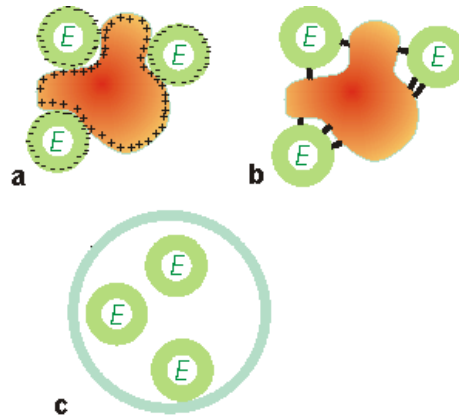


Fig. 2.7³ Tipus de immobilitzacions sobre biosensors.

2.3. Aplicacions

Degut a l'extensa varietat possible de biosensors, el baix cost i la ràpida resposta que poden aportar aquests dispositius permeten un ampli espectre d'aplicacions possibles. La més implantada es la utilització per aplicacions mèdiques. Mesures de la sang, ions i metabòlits són necessàries per saber l'estat metabòlic del pacient – sobretot per pacients que estan a l'hospital i encara més els que estan a cures intensives. Moltes mesures de la sang o orina fetes a laboratoris tarden hores o inclòs dies a estar finalitzades. La utilització de biosensors pot accelerar el procés de mesura a minuts o menys. Permeten portabilitat i miniaturització dels equips de mesura.

Un altra àrea d'aplicació és el control de processos industrials. Principalment s'utilitza per al control de processos de fermentació, per tal de millorar el procés de manufactura.

Per una altra banda també existeix la monitorització de l'entorn. Hi ha un ampli ventall d'analits a l'aire, l'aigua, el sol i altres situacions. Es poden mesurar els pesticides presents, restes de fertilitzants, desaprofitaments industrials i domèstics, contaminació.

³ Figura extreta de la referència [12].

2.4. Immunosensor Impedimètric

Els encarregats de realitzar el biosensor del projecte són el Centre Nacional de Microelectrònica (CNM) i el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). El CNM realitza el disseny del transductor i el CSIC la selecció de l'element de detecció necessari que s'immobilitzarà sobre el transductor.

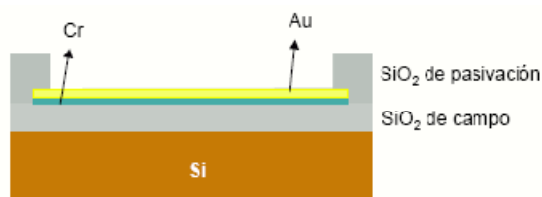


Fig. 2.8 Tecnologia microelectrònica Si/SiO₂/Metall

El transductor estarà format per uns elèctrodes metàl·lics de geometria plana d'or o platí, s'utilitzarà tecnologia microelectrònica de Si/SiO₂/metall aplicat en Sala Blanca, figura 2.8. El transductor està format per tres elèctrodes, un elèctrode de treball, un elèctrode auxiliar o contra-elèctrode i un pseudo-elèctrode de referència. L'or i el platí són materials normalment utilitzats en el desenvolupament de sensors electroquímics, ja que permeten protocols per immobilitzar biomolècules de naturalesa molt diversa a la superfície. El material utilitzat per al biosensor final és l'or, i les dimensions del mateix són de 3x3.5 mm².

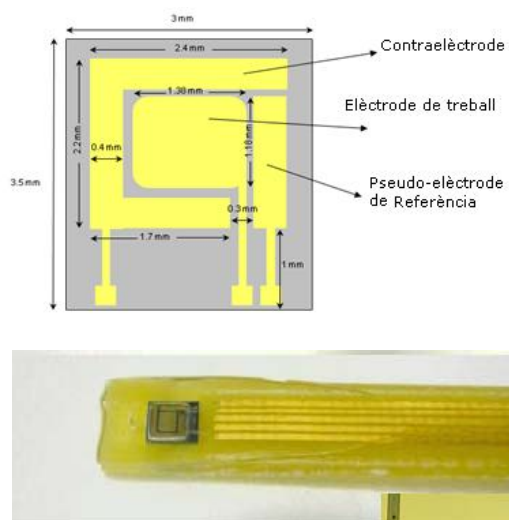


Fig 2.9 Biosensor implementat pel CNM

Per tal d'activar la superfície del transductor és necessari fer un pretractament dels elèctrodes d'or. Aquest procés netejarà i activarà la superfície d'or útil del transductor.

Un cop realitzada la selecció dels biomarcadors, immunoreceptors i altres bio-reactius i l'avaluació de la seva resposta per la detecció de bacteris patògens en mostra de carn, es pot procedir a la immobilització sobre la superfície dels elèctrodes. Per al present projecte es fa una immobilització covalent d'anticossos *anti-E. Coli*, ja que es pretén detectar la bactèria *E. Coli* O157:H7 específicament, que es el serotip que més es troba en infeccions humanes degut a la ingesta de carn de vaca contaminada. Per la preparació del sensor es genera una monocapa autoensamblada mixta utilitzant tiols de mercaptà i la immobilització covalent del anticòs *anti-E.Coli*, la figura 2.10 mostra un esquema.

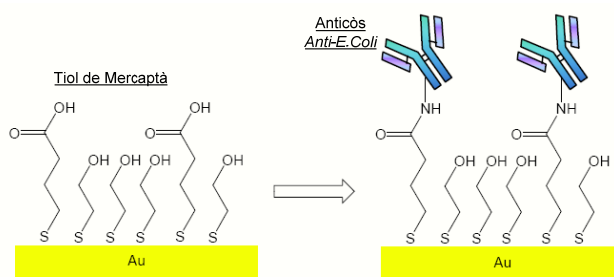


Fig. 2.10 Immobilització de l'anticòs

Un exemple de detecció impedimètrica es pot veure a la figura 2.11. Les Y de color blau són els anticossos que enganxaran la bactèria. Els rombes vermells representen la bactèria *E.coli*. En absència de mostra es mesura un valor de R_{ct} , al enganxar-se els bacteris, es produeix un augment o disminució d'aquesta resistència, podent mesura la seva variació.



Fig. 2.11 Exemple d'actuació anticòs-antígen per la mesura.

3. CARACTERITZACIÓ DE BIOSENSORS MITJANÇANT ESPECTROSCÒPIA D'IMPEDÀNCIES ELECTROQUÍMIQUES

3.1. Idea d'Impedància

Si s'aplica un camp elèctric en un material, apareixen una densitat de càrrega i una densitat de corrent associades al camp.

$$\vec{D} = \epsilon_0 \vec{E} + \vec{P} = \epsilon_0 \epsilon_r \vec{E}$$

$$\vec{J} = \sigma \vec{E}$$

A on ϵ_0 és la permitivitat en el buit, ϵ_r és la permitivitat relativa del material i σ és la conductivitat del material.

En continua es pot definir la impedància interna del material com

$$Z_i = \frac{E}{J} = \frac{1}{\sigma}$$

En alterna i utilitzant l'aproximació quasi estàtica (la longitud d'ona del senyal en el medi es molt més gran que les dimensions de l'objecte) el valor de la impedància llavors es pot calcular com

$$Z_i = \frac{1}{\sigma + j\omega\epsilon\epsilon_0} = \frac{1}{\sigma^*} = \frac{1}{j\omega\epsilon_0\epsilon^*}$$

$$\sigma^* = \sigma + j\omega\epsilon\epsilon_0 \equiv \sigma' + j\sigma''$$

$$\epsilon^* = \epsilon - j\frac{\sigma}{\omega\epsilon_0} \equiv \epsilon' - j\epsilon''$$

A on σ^* i ϵ^* són la conductivitat i la permitivitat complexes. La representació complexa d'aquests paràmetres incorporen la dependència freqüencial i les pèrdues dielèctriques del material.[2, 3]

Des d'un altre punt de vista es pot representar la impedància de forma complexa a través d'elements resistius i capacitius. Aquesta es pot representar com la suma d'una part resistiva (R) més una de reactiva (X).

$$Z = R + jX$$

$$X = \frac{1}{j\omega C}$$

Considerant el seu complementari que es l'admitància, serà l'alternativa al pas del corrent, aquesta està formada per dos components, la conductància (G) i la susceptància (B), que són els complementaris a la resistència i la reactància de la impedància.

$$Y = G + jB$$

$$B = j\omega C$$

3.2. Espectroscòpia d'impedància

L'espectroscòpia d'impedància (EI) es un mètode de mesura no invasiu, que permet la caracterització de les propietats elèctriques dels materials i les seves interfícies, amb l'ajut d'elèctrodes que permeten la conducció de corrent elèctrica.

La base de l'EI és la mesura de la impedància del material utilitzant un senyal d'excitació. L'anàlisi permet extreure conclusions sobre la conductivitat, la permitivitat dielèctrica, les propietats estàtiques de la interfície i les propietats dinàmiques degudes a l'absorció o la transferència de càrrega.

La mesura es realitza injectant un potencial AC a l'element i mesurant el corrent AC resultant. Si apliquem un potencial sinusoidal obtindrem com a resposta un corrent AC que contindrà la freqüència d'excitació i tots els harmònics resultants.

En funció del tipus de senyal d'excitació estarem mesurant la impedància o l'admitància. Per exemple si excitem amb un potencial i mesurem el flux de corrent resultant s'estarà fent una mesura de l'admitància del material. En canvi si apliquem un corrent i mesurem el potencial resultant s'estarà fent una mesura de la impedància del material. Si es té una de les dues variables es pot obtenir l'altre.

Com que el biosensor és un dispositiu electroquímic es pot definir un sistema de test d'impedància electroquímica com un sistema que investiga la interfície entre elèctrodes i una solució. El sistema de mesura està format per una etapa frontal anomenada potenciostat que aplicarà l'excitació al dispositiu, juntament amb una etapa de mesura, que consisteix en un analitzador de la resposta freqüencial.

El potenciostat permetrà generar el senyal necessari, tenint en compte la seva amplitud i freqüència, que serà aplicat per fer la mesura. A més, es podrà aplicar un senyal de polarització en DC que permetrà treballar, en determinats casos, en una zona lineal. També conté les entrades/sortides necessàries per connectar-hi els elèctrodes.

La mesura es pot fer a 2-, 3- i 4-elèctrodes. Aquests consisteixen en un 'counter electrode' (CE) que permet injectar el senyal d'excitació, un 'work electrode' (WE) que proveeix la mesura de la tensió o el corrent, i un o dos 'reference electrodes' (RE) per mesurar el potencial de referència. La figura 3.1 mostra una figura amb la configuració dels elèctrodes.

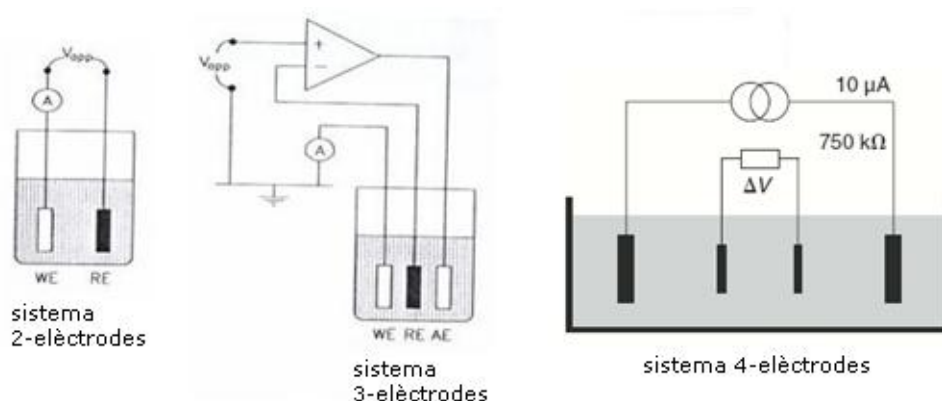


Fig. 3.1 Modelat de sistemes amb diferents configuracions d'elèctrodes.

A la figura es pot veure la configuració a 2- i 3- elèctrodes. En la de dos elèctrodes s'excita i es mesura per els mateixos elèctrodes; la configuració de 4 elèctrodes seria igual que la de dos però afegint-hi els que hi falten, ara s'excitaria per dos elèctrodes i es mesuraria pels altres dos; en la configuració de 3-elèctrodes s'utilitza un tercer elèctrode per mesura el potencial de la solució i fer la compensació del corrent.

3.3. Models

La paraula model té bàsicament dos interpretacions diferents; com a prototip/dibuix i com a equivalent/substitut. En aquest cas ens quedem amb la segona interpretació. Els models substitutius representen altres propietats més que les visuals. Aquest tipus de models són molt interessants perquè ens permeten predir la funcionalitat o l'estructura de l'original o la resposta a un estímul. Existeixen diferents tipus de representació, per exemple, com a model matemàtic o com a model elèctric.

En aquest cas, com que estem caracteritzant la impedància de l'element de mesura, ens basarem en fer un model elèctric que correspongui amb la resposta de la impedància. La figura 3.2 mostra un diagrama de flux [2] per la mesura i la caracterització de materials. Els models es construeixen a partir d'elements de paràmetres concentrats com resistències i condensadors. Però poden aparèixer casos més complexos a on no es pugui simplificar el model amb elements simples. L'element més utilitzat, a part dels simples, es l'element de fase constant (Constant Phase Element CPE) que no pot ser modelitzat amb un nombre finit de resistències i condensadors. Per més informació es pot consultar la referència[3].

La fase d'aquest element és constant amb la freqüència i val α , si α val zero l'element es comporta com un condensador pur.

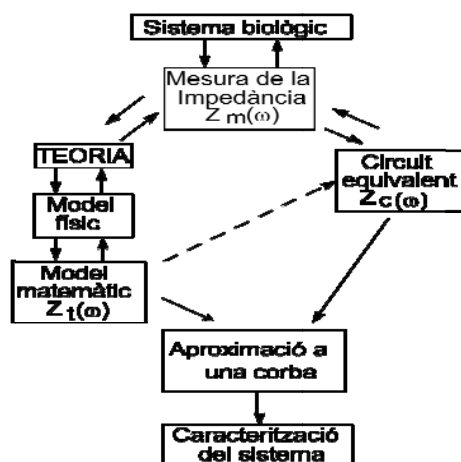


Fig. 3.2 Diagrama de flux per la mesura i caracterització de materials a partir de la mesura d'impedància

Model amb dos components

En aquest apartat es veuran el circuit equivalent més simple que es pot realitzar. El model amb dos components, una resistència i un condensador, és el més simple i el més interessant, ja que la majoria de respostes es poden reduir a aquest circuit. Hi ha dos models possibles.

El model paral·lel o d'admitància, el qual s'obté d'aplicar una tensió a través del model i mesurar el corrent, es mostra a la figura 3.3.

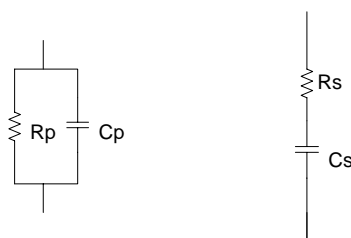


Fig. 3.3 Model de 2 components. Xarxa paral·lel RC; Xarxa sèrie RC.

El valor de l'admitància de la xarxa paral·lel és

$$Y = G + j\omega C_p$$

L'altre model es el sèrie o d'impedància, aquest s'obté aplicant un corrent i mesurant la tensió, es mostra a la figura 3.3.

El valor de la impedància de la xarxa sèrie és

$$Z = R - j/\omega C_s$$

La figura 3.4 mostra el diagrama de Bode característic per a un circuit equivalent d'impedància format per dos elements. La representació amb diagrama de Bode permet veure el valor en cada punt de freqüència.

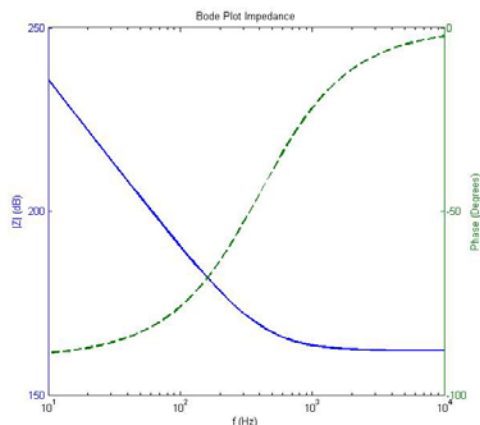


Fig. 3.4 Diagrama de Bode i Fase de la xarxa RC sèrie.

Per una altra banda es té la representació complexa, que mostra la representació de la part imaginària en front de la real de l'element. La figura 3.5 mostra la representació de la impedància d'una xarxa RC sèrie i l'admitància d'una xarxa RC paral·lel.

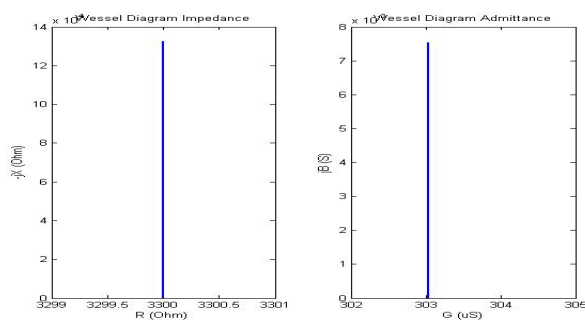


Fig. 3.5 Diagrama de Wessel per una xarxa RC sèrie i una xarxa RC paral·lel.

Model amb més de dos components

A vegades el model de dos components es massa simple per caracteritzar el sistema i es necessita una xarxa més complexa. Hi ha moltes combinacions possibles per caracteritzar un model amb més de dos components, però les més utilitzades són les de la figura 3.6.

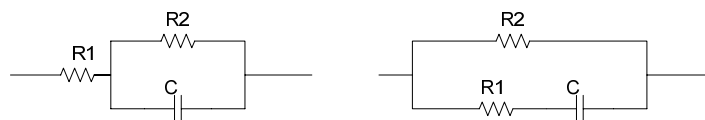


Fig. 3.6 Models típics amb xarxa 2R-C.

Aquests models tenen una resposta similar, permeten utilitzar qualsevol dels dos per una mateixa resposta, depenent la seva elecció, del fenomen electroquímich que es pretén modelar. La representació de Bode per aquest tipus de circuit es el de la figura 3.7.

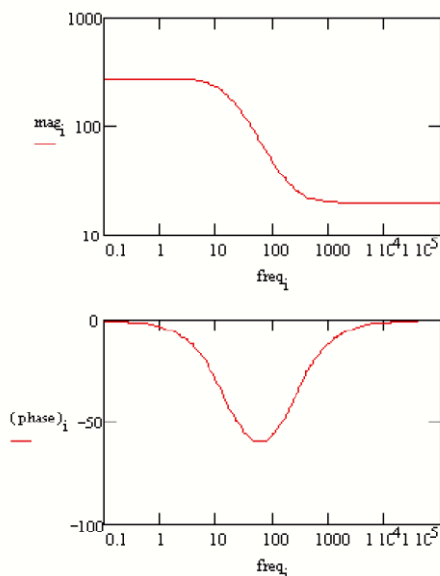


Fig. 3.7 Diagrama de Bode d'una xarxa 2R-C.

La figura 3.8 mostra el diagrama de Wessel corresponent, en aquest cas per al primer model, encara que els dos tenen una resposta similar, només canvien els valors.

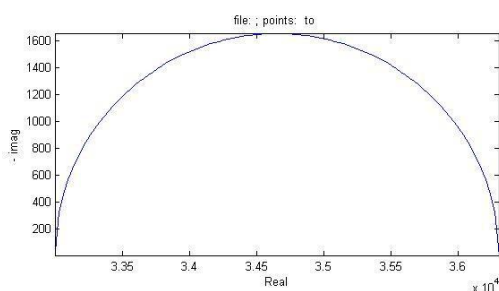


Fig. 3.8 Diagrama de Wessel d'una xarxa 2R-C.

Coneixent aquests models es pot treure l'equivalen elèctric que representi la resposta del material mesurat. Els valors dels paràmetres equivalents s'extreuen utilitzant mètodes d'ajust de corbes a funcions. Aquests models es poden fer servir per fer simulacions i predir la resposta en determinades situacions. A partir d'aquí es pot complicar tant com sigui necessari el circuit equivalent ajuntant diferents models per tal de poder aproximar-nos millor a la resposta real del material mesurat.

3.4. Modelat de Biosensors

L'espectroscòpia d'impedàncies ens permet realitzar un model equivalent de les propietats elèctriques d'un material, com s'ha vist en els apartats anteriors. En aquest apartat es caracteritza el modelat elèctric per a biosensors.

Si considerem una cel·la electroquímica com una impedància amb una excitació sinusoidal, els fenòmens que succeeixen a la interfície elèctrode/electròlit es poden modelar extraient els components d'un circuit equivalent de resistors i condensadors.

Un model molt utilitzat és el Randles i Ershler [2]. La figura 3.9 mostra el circuit equivalent. Els elements que componen el model són:

- R_s , la resistència òhmica de la solució electrolítica.
- Z_w , es la impedància Warburg, que representa efectes de difusió dels ions entre l'electròlit i l'elèctrode.
- R_{ct} , que és la resistència a la transferència de càrrega.
- C_{dl} , es la capacitat que apareix degut a la unió entre l'elèctrode i l'electròlit. Aquesta unió provoca una distribució de carregues apareixen un potencial. Es creen llavors dos capes de càrrega oposada, una a l'elèctrode i l'altra a l'electròlit, formant així la capacitat de doble capa.

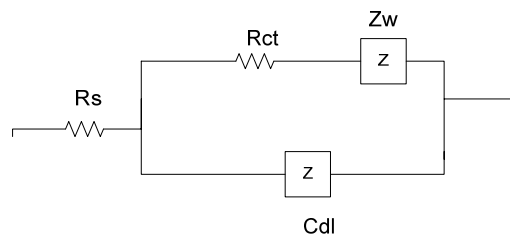


Fig. 3.9 Model equivalent de Randles

Partint d'aquest model els fabricants del biosensor, que s'utilitzarà durant el projecte, ens donen un model equivalent, figura 3.10. A on R_s es la resistència de la solució, R_{ct} representa la resistència a la transferència de càrrega, CPE_{dl} es l'element de fase constant que representa la capacitat de doble capa i W es la impedància de Warburg, que modela els processos de difusió a baixa freqüència. L'element R_{ct} és l'indicador de la variació de la impedància.

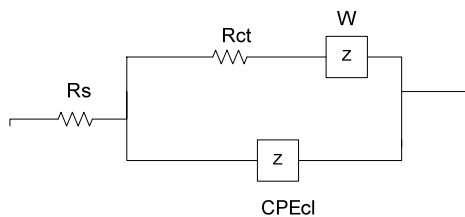


Fig. 3.10 Circuit equivalent modelitzat del biosensor.

3.5. Extracció de les característiques inicials de disseny

El fabricant va realitzar una sèrie de proves inicials per caracteritzar el biosensor, de forma que es determinessin les pautes de disseny. L'experiment consisteix en realitzar unes proves que simulessin una mesura amb les bactèries que es volen detectar, utilitzant un element químic amb una reacció semblant.

L'experiment executat consisteix en la mesura de la resistència de càrrega en una dissolució que conté una concentració equimolar de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, a potencial de circuit obert i en un rang de freqüències entre 100 kHz i 1 Hz. Amb els resultats obtinguts es determinen les condicions inicials de disseny per al projecte.

Tenim les dues representacions gràfiques de les dades obtingudes. Es a dir, una representació en el pla complex i una amb diagrama de Bode. Les gràfiques obtingudes representen diferents concentracions en unes dissolucions de 10, 5, 2 i 0 mM de l'espècie preparades en 0.1 M de Nitrat Potàssic (KNO_3).

La primera gràfica és el diagrama de Bode de les mesures (Figura 3.11). Es pot veure com varia el valor de la impedància mesurada en funció de la concentració del compost. Obtenint uns valors entre 1 k Ω i 10 k Ω . A més es veu una zona de major canvi que està compresa entre 10 Hz i 10 kHz. Per concentració 0 mM es veu com el valor d'impedància es eleva, però no es un fet rellevant ja que no influeix en la determinació de les característiques de disseny. Finalment cal destacar que com més concentració s'obté un valor menor de impedància, i com menys concentració s'obté un valor major d'impedància, de forma que per un valor de 10 k Ω a 1Hz hi ha una concentració de 2 mM, i per un valor de 1 k Ω a un 100 Hz hi ha una concentració de 10 mM.

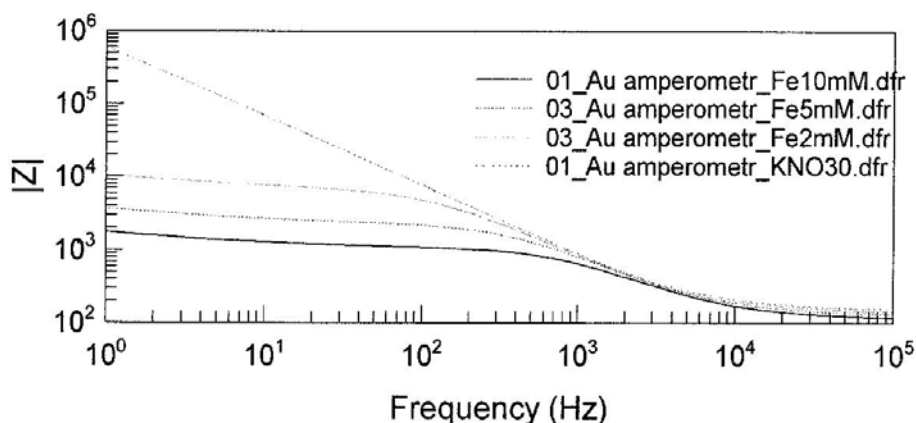


Fig. 3.11 Representació del Diagrama de Bode de mesures inicials amb el biosensor.

La segona gràfica fa la representació en diagrama de Wessel (figura 3.12). En aquest cas es veu la variació de forma més destacada apareixen una cua a baixes freqüències a causa de efectes de difusió, que es modelen per la impedància de Warburg vista en l'apartat anterior.

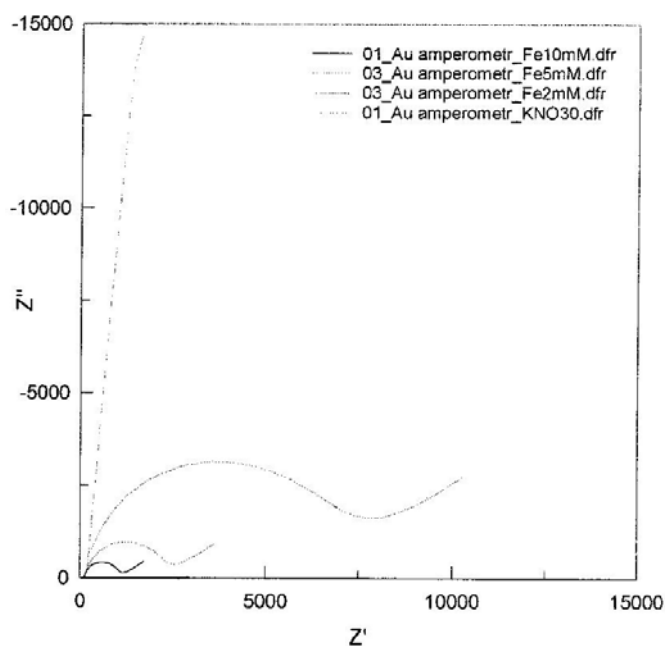


Fig. 3.12 Representació en el pla complex de les mesures inicials del biosensor.

Per tant les dades de disseny del circuit venen imposades per:

- Ample de Banda entre 10 Hz i 10 kHz.
- Variació d'impedància entre 1 k Ω i 10 k Ω .
- Mesura a 3 elèctrodes.

4. DISSENY

4.1. Introducció

En aquest capítol es donaran a conèixer els passos seguits per tal de trobar una solució al disseny del sistema de mesura. Hi ha dos parts fonamentals, una per al disseny hardware i una altra per al disseny del sistema de control. En la primera part s'analitzen les alternatives possibles per la realització del circuit d'adquisició i mesura, i es soluciona un disseny final. La segona part explica el disseny del sistema de control, desde la utilització d'una interfície per tal de connectar el PC amb el sistema de mesura, fins a la implementació del software de control que servirà com a interfície entre l'usuari i el sistema de mesura.

La impedància és un element complex, com s'ha vist al capítol anterior, per tant, provocarà un cert desfasament entre la tensió i el corrent que hi circulen. Per mesurar aquest desfasament es necessita un sistema de mesura directa sensible a la fase. Un altre punt és, el coneixement de la no linealitat dels sistemes electroquímics en funció de l'amplitud del senyal injectat. Per estar en una zona lineal s'han d'aplicar senyals de baixa amplitud i en alguns casos un senyal de polarització, la figura 4.1 mostra un exemple, apareixent problemes amb el soroll interferent i implícit en els circuits electrònics degut als senyals de baixa amplitud i problemes de linealitat, que provoquen l'aparició d' harmònics en el senyal mesurat.

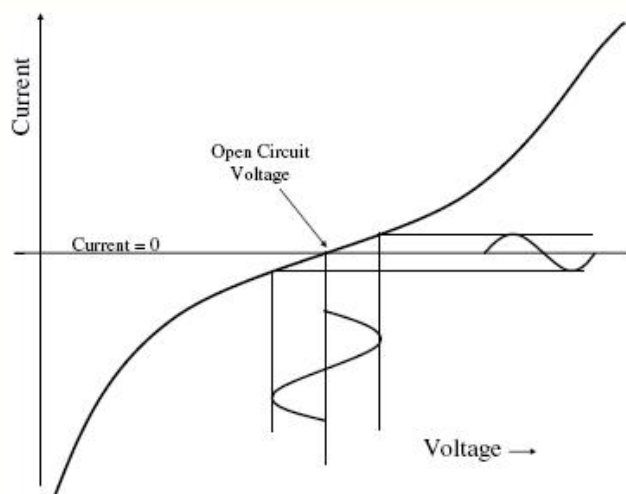


Fig. 4.1 Exemple de resposta no lineal amb polarització a potencial de curtcircuit.

Un circuit extensament acomodat per fer aquest tipus de mesures és el desmodulador coherent. Aquest tipus de desmodulació permet realitzar la detecció de fase i, a més, permet un rebuig del soroll acoblat al senyal de mesura que pertanyi a altres rangs freqüencials.

Per fer la mesura d'impedància s'injecta un senyal AC a l'element que volem mesurar, de forma que s'està realitzant una modulació d'amplitud del senyal portador. Si el senyal d'excitació es una tensió i la sortida un corrent es fa una mesura d'admitància, en canvi si el senyal d'excitació es un corrent i el de mesura una tensió s'està mesurant impedància.

Una de les tècniques per fer la desmodulació és multiplicar el senyal de sortida per un senyal de referència en fase i en quadratura i filtrant passa baixos per tal d'obtenir només les components DC d'interès.

La figura següent mostra l'esquema d'un sistema de mesura directa amb detecció de fase basat en un detector coherent.

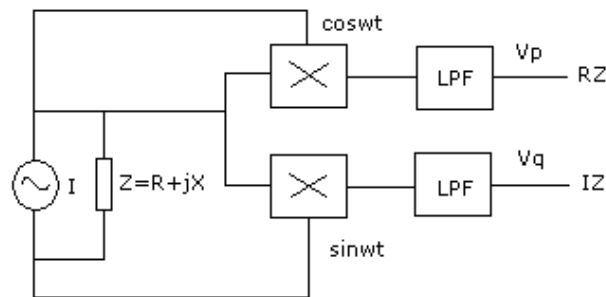


Fig. 4.2 Esquema d'un sistema de desmodulació coherent.

$$V = IZ = I_0 Z \cos(2\pi f_x t + \vartheta_z)$$

Si calculem el producte amb un senyal de referència en fase

$$V_p = \text{lpf}\{V_x r(t)\} = V_r I_0 |Z| \cos \vartheta_z$$

Si calculem el producte amb un senyal de referència desfasat en quadratura

tal que

$$r(t) = V_r \cos\left(2\pi f_r - \frac{\pi}{2}\right) = -V_r \sin(2\pi f_r)$$

S'obté

$$V_q = V_r I_0 |Z| \sin \theta_z$$

Per tant, s'obtenen la par real i imaginària de la impedància que es vol mesurar, de les quals es deduirà el mòdul i la fase.

L'ample de banda equivalent de soroll és el del filtre passa baixos de sortida, amb el que la relació senyal/soroll (SNR) pot ser molt elevada.

Existeixen diverses alternatives a l'hora d'implementar aquest circuit per la mesura d'impedàncies en funció del tipus d'excitació i desmodulació. Hi ha tres alternatives possibles:

- Sistema Analògic – Analògic
- Sistema Digital – Analògic
- Sistema Digital – Digital

Un diagrama equivalent que representaria el sistema és el de la figura 4.3.

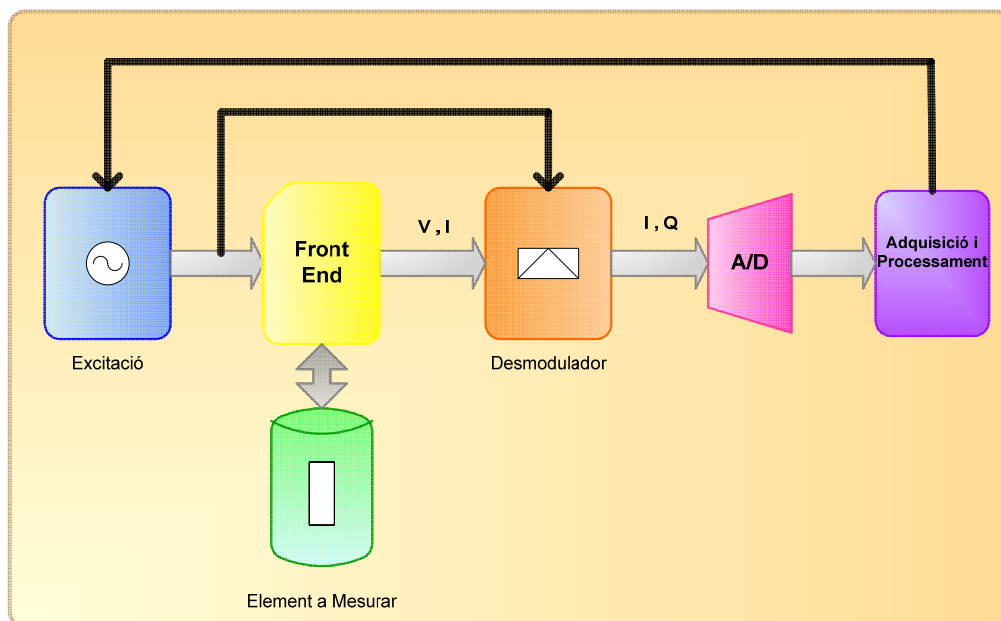


Fig. 4.3 Diagrama equivalent que mostra un sistema de mesura d'impedància amb desmodulador coherent.

Els sistemes analògic – analògic són complexos i tenen un procés de disseny llarg. Es necessita realitzar el disseny d'un oscil·lador que permeti obtenir senyals de diferents freqüències i amb senyals molt dèbils, de l'ordre de desenes de mV. Per una altra banda s'ha d'implementar el desmodulador amb un multiplicador i un canviador de fase per obtenir el senyal de referència desfasat 90 graus respecte la de referència.

El sistema digital-analògic permet sintetitzar digitalment el senyal d'excitació, per exemple utilitzant un sintetitzador digital directe (DDS), però la part de desmodulació segueix sent analògica i, per tant, complexa de realitzar per a freqüències múltiples. L'avantatge de la desmodulació analògica és que el senyal de sortida és de baixa freqüència i permet l'ús d'un convertidor analògic/digital (ADC) lent.

Per últim tenim l'alternativa digital–digital, en aquest cas, tan el senyal d'excitació com la desmodulació es fan de forma digital. L'excitació es genera mitjançant un DDS i la desmodulació es fa de forma digital, adquirint el senyal d'alta freqüència, fent la transformada digital de Fourier (DFT) i implementant el programa que realitzi la multiplicació.

Pel nostre cas, i degut a les característiques del sistema, principalment el marge freqüencial, hem optat per utilitzar un xip d'Analog Devices, que està actualment al mercat, i ens permet fer la mesura d'impedància de forma digital – digital. Aquest xip integra un DDS per tal de generar un senyal sinusoidal i conté una etapa d'entrada que fa la conversió corrent tensió, un convertidor ADC per tal de realitzar l'adquisició i un nucli de processament digital (DSP) per fer la DFT i la multiplicació amb el senyal en fase i quadratura, retornant la part real i imaginària de la impedància mesurada. El xip es l'AD5933 i ens allibera de la necessitat de dissenyar un sistema complex que portaria un temps llarg de disseny.

4.2. Disseny Hardware

En aquest apartat s'explicarà el procediment seguit per realitzar el disseny del sistema per a mesura d'espectroscòpia d'impedàncies. Primerament es farà una introducció i explicació del circuit integrat (CI) d'Analog Devices AD5933, a on s'explicarà el funcionament d'aquest i les característiques i limitacions principals. Seguidament es faran un seguit de

propostes per solucionar les limitacions del xip en front al sistema que es vol implementar. Finalment s'expliquen les solucions adoptades per al sistema final.

4.2.1. AD5933

L'AD5933 és un sistema que permet realitzar mesura d'impedàncies complexes a una determinada freqüència a dos fils. És un sistema de mesura amb una resolució de 12 bits, que combina un generador de freqüència i un convertidor analògic-digital, a més d'un nucli processador de senyal digital, que realitza la estimació d'impedància. Pot treballar amb un ample de banda de fins a 100 kHz i el convertidor ADC permet una adquisició de fins a 1MS/s.

Per una altra banda, integra un sistema de comunicació basat en I²C que permet la configuració dels diferents registres, a més de l'obtenció de la part real i imaginària de la impedància. Treballa en un rang d'alimentació entre 2.7 V i 5.5 V. Es poden destacar la incorporació d'un sensor de temperatura intern i, la possibilitat d'utilitzar un rellotge intern, en comptes d'un d'extern.

Serà el nucli de mesura del sistema a dissenyar, i per tant, s'han d'analitzar les seves limitacions per tal d'adaptar-ho al nostre sistema de mesura. El fet de tenir tot el sistema de mesura integrat en un xip, el fa ideal per realitzar sistemes econòmics, reduïts i portables. La figura següent mostra un diagrama de blocs del CI.

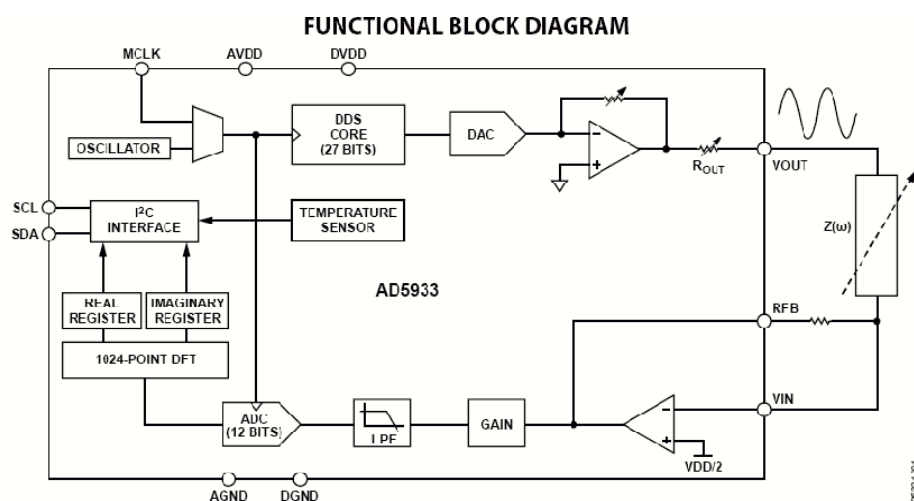


Fig. 4.4 Diagrama de blocs de l'AD5933.

El sistema esta format per quatre blocs principals:

- Una etapa d'excitació
- Una etapa de mesura
- Una etapa de transformació i càlcul
- Una etapa de comunicació

L'etapa d'excitació la forma un DDS amb un acumulador de fase de 27-bits, que permet treure un senyal d'excitació a una freqüència en particular, i un convertidor digital-analògic. Té una resolució de 0.1Hz, i es programa la freqüència mitjançant els registres interns a partir del bus I²C, amb una paraula de 24-bits.

El xip permet fer escombrats de freqüència a través dels registres interns. Hi ha tres registres per fer els escombrats, 'start frequency' que permet assignar la freqüència inicial, 'frequency increment' per programar el increment de freqüència i finalment 'number of increments' que determina el numero d'increments que es volen realitzar. L'inconvenient és que només es poden fer increments lineals de freqüència i no logarítmics que poden ser de major interès en la nostra aplicació.

La sortida del DDS passa per un amplificador de guany variable que permet excitar la impedància amb senyals de diferent amplitud. Permet programar quatre rangs diferents. A la taula 4.1 es poden veure aquests valors per una alimentació de 5 V.

Rang	Amplitud Sortida	Tensió DC Bias
1	3 V p-p	2.24 V
2	1.47 V p-p	1.15 V
3	580 mV p-p	469 mV
4	300 mV p-p	262 mV

Taula 4.1 Rang de valors de la tensió de sortida de l'etapa frontal de l'AD5933.

La impedància a mesurar es connecta entre els terminals Vin i Vout de l'AD5933. Vout es la sortida de l'etapa d'excitació. Vin correspon a l'etapa d'entrada que condiciona el senyal sensat per tal d'estimar el valor d'impedància.

L'etapa d'entrada està formada per un convertidor corrent – tensió seguit d'un amplificador de guany programable (PGA), un filtre antialiasing i un convertidor (ADC) de 12 bits i 1MS/s inicialment. El convertidor corrent-tensió fa la transformació a través d'un resistor

de realimentació R_{FB} . El PGA permet donar un guany de 1 o de 5. Es important escollir el valor de la resistència de realimentació i el guany de l'amplificador, per tal de condicionar el senyal de mesura al rang dinàmic del convertidor ADC, entre la tensió d'alimentació i massa. El guany de l'etapa d'entrada ve determinat per

$$Guany = SortidaExcitació \frac{R_{FB}}{Z_{DESCONEGUDA}} GuanyPGA$$

Seguidament les dades mostrejades es passen a l'etapa de transformació i càlcul, que consisteix en un nucli DSP. Aquest calcula la transformada de Fourier de les dades d'entrada i el senyal de referència provinent del DDS de l'etapa d'excitació. La multiplicació s'acumula sobre 1024 mostres per cada freqüència. El resultat es guarda en dos paraules de 16 bits que representen la part real (R) i imaginària (I) de la impedància mesurada. Les dades que retorna estan en complement a dos.

Un cop obtingudes les dades és fàcil calcular el mòdul i la fase de la impedància a partir de les equacions:

$$Magnitud = \sqrt{R^2 + I^2}$$

$$P = \tan^{-1}(I/R)$$

A més, el sistema permet fer una calibració amb una impedància coneguda calculant un factor de guany, que escalarà el valor obtingut de la DFT en un valor d'impedància. Això es degut a que el senyal de referència prové del sintetitzador digital, i el senyal sensat està escalat amb el convertidor ADC. Per tal d'obtenir el valor correcte d'impedància s'ha de calcular el guany per fer l'escalat correcte.

$$Factor\ Guany = \frac{1}{Z_{CONEGUDA} \cdot Mòdul}$$

Lavors la impedància es mesurarà com

$$Impedància = \frac{1}{FactorGuany \cdot Mòdul}$$

Per últim, ens trobem amb una etapa de comunicació que facilita la programació dels registres interns. El sistema treballa amb un bus I²C, té una adreça de 7-bits, amb un valor inicial de 0001101 (H0D), i treballa amb freqüències de rellotge compreses entre 100 kHz i 400 kHz.

Register	Name	Register Data
0x80	Control	D15 to D8
0x81		D7 to D0
0x82	Start Frequency	D23 to D16
0x83		D15 to D8
0x84		D7 to D0
0x85	Frequency Increment	D23 to D16
0x86		D15 to D8
0x87		D7 to D0
0x88	Numbers of Increment	D15 to D8
0x89		D7 to D0
0x8A	Number of STC	D15 to D8
0x8B		D7 to D0
0x8F	Status	
0x92	Temperature Data	D15 to D8
0x93		D7 to D0
0x94	Real Data	D15 to D8
0x95		D7 to D0
0x96	Imaginary Data	D15 to D8
0x97		D7 to D0

Taula 4.2 Registres interns de l'AD5933.

La taula 4.2 mostra el mapa de registre intern del xip, a on cal destacar el registre de control. Aquest permet donar-li les ordres al xip per què faci la mesura, posar el sistema en standby, fer un reset o un power-down. La taula 4.3 mostra les possibles operacions possibles.

D15	D14	D13	D12	Function
0	0	0	0	No operation
0	0	0	1	Initialize with start frequency
0	0	1	0	Start frequency sweep
0	0	1	1	Increment frequency
0	1	0	0	Repeat frequency
1	0	0	0	No operation
1	0	0	1	Measure temperature
1	0	1	0	Power-down mode
1	0	1	1	Standby mode
1	1	0	0	No operation
1	1	0	1	No operation

Table 10. Control Register Map (D10 to D9)

D10	D9	Range No.	Output Voltage Range
0	0	1	2.0 V p-p typical
0	1	4	200 mV p-p typical
1	0	3	400 mV p-p typical
1	1	2	1.0 V p-p typical

Bits	Description
D11	No operation
D8	PGA gain; 0 = $\times 5$, 1 = $\times 1$
D7	Reserved; set to 0
D6	Reserved; set to 0
D5	Reserved; set to 0
D4	Reset
D3	External system clock; set to 1 Internal system clock; set to 0
D2	Reserved; set to 0
D1	Reserved; set to 0
D0	Reserved; set to 0

Taula 4.3 Bits del registre de control de l'AD5933.

Els 4 bits de més pes realitzen les funcions de mesura, standby i power-down. Els bits 9 i 10 configuren el rang de la tensió de sortida entre els 4 possibles. El 8 permet programar el guany del PGA. El 4 permet realitzar un reset. I el bit 3 permet seleccionar l'origen del rellotge.

El sistema necessita un rellotge per funcionar. Aquest es pot obtenir bé externament o bé internament, amb una freqüència de 16.776 MHz.

Del full de característiques de l'AD5933 s'extreuen algunes dades d'interès com que l'excitació de sortida es programable fins a un freqüència de 100 kHz. Permet un rang de mesura d'impedàncies desde 1 k Ω fins a 10 M Ω , ajustant adequadament el valor pic a pic de la sortida, seleccionant la resistència de feedback i el guany del PGA de l'etapa d'entrada. A més aconsella algunes de les aplicacions possibles com per exemple anàlisi electroquímic, espectroscòpia d'impedàncies, mesura d'impedàncies complexes, sensors biomèdics i del automòbil i sensors de proximitat.

4.2.2. Caracterització de l'AD5933

Per caracteritzar el CI es va optar per començar a treballar amb la placa d'avaluació que proporciona Analog Devices, EVAL-AD5933EB. La placa d'avaluació, a la figura 4.5 es pot veure un diagrama de blocs funcional, consta d'un sistema de comunicació USB-I²C per tal de poder treballar amb el PC, una zona d'alimentació i uns terminals SMB per on s'accedeix als pins Vin i Vout del xip. Permet modificar la impedància de feedback de l'etapa d'entrada i escollir entre un oscil·lador extern de 16 MHz i l'oscil·lador intern. Compta amb un software de suport per tal de configurar el xip i realitzar mesures, figura 4.6. El software permet veure el mòdul i la fase de la impedància mesurada i emmagatzemar les dades en un arxiu.

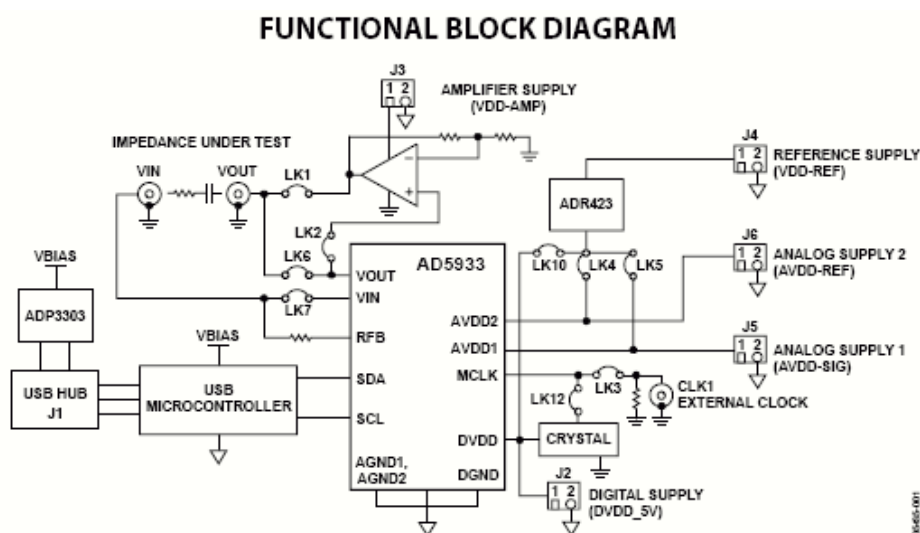


Fig. 4.5 Diagrama de blocs de la placa d'avaluació de Texas Instruments per l'AD5933.

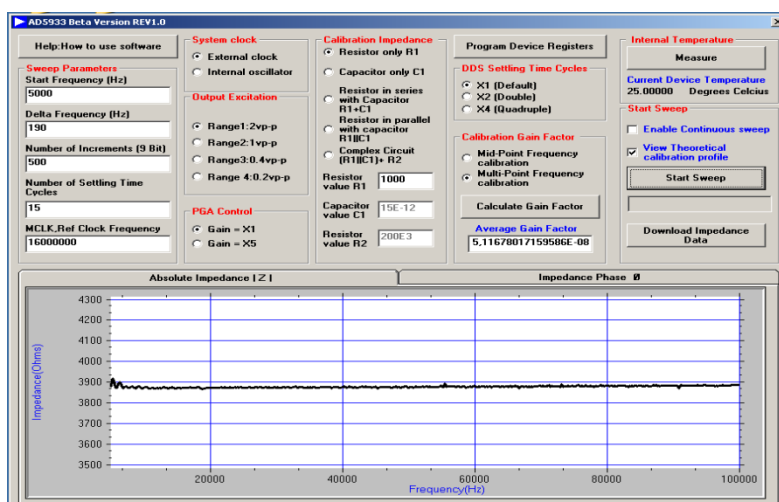


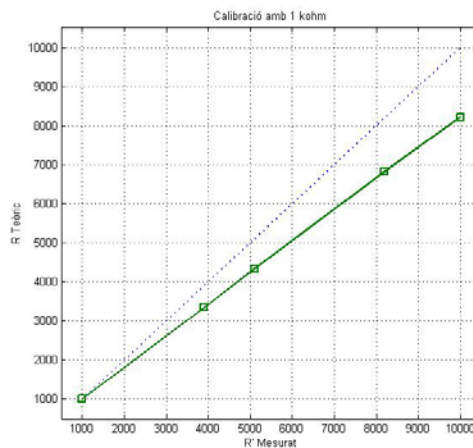
Fig. 4.6 Software de control i mesura del sistema d'avaluació per l'AD5933.

S'han realitzat una sèrie d'experiments o proves per tal d'obtenir la funcionalitat del sistema. El que es vol és veure en quin rang de freqüències se'l pot fer treballar i quins valors d'impedància permet mesurar. Per tant es faran els següents experiments:

- Determinació del rang d'impedàncies de treball.
- Determinar del rang de freqüències de treball.

Primerament s'han realitzat unes proves per veure quin rang d'impedàncies pot mesurar correctament. Com que el nostre sistema inicialment té un rang comprès entre $1\text{ k}\Omega$ i $10\text{ k}\Omega$ es faran mesures amb aquests valors.

Ja que els valors d'impedància són baixos, s'ha optat per col·locar una impedància de realimentació a l'etapa d'entrada de $1\text{ k}\Omega$ per tal d'adaptar-nos bé al rang dinàmic del ADC. Segons el full de característiques diu que com més a prop estigui la resistència de realimentació del valor que volem mesurar menys error es cometrà. En totes les mesures es fa un escombrat de freqüències entre 5 kHz i 100 KHz . S'han fet tres calibratges amb una resistència de $1\text{ k}\Omega$, una de $5\text{ k}\Omega$ i una de $10\text{ k}\Omega$.



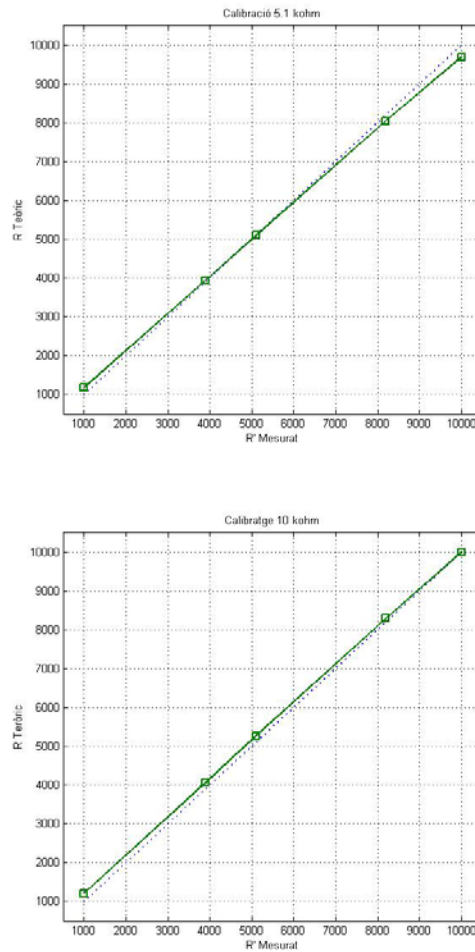


Fig. 4.7 Corbes de linealitat de diferents mesures amb l'AD5933.

Les imatges anteriors mostren les gràfiques del valor teòric i el mesurat amb l'AD5933 per als tres calibratges, la línia de punts mostra els valors teòrics que s'haurien de mesurar. Es veu com pel calibratge a $1\text{k}\Omega$ apareix un error major a mesura que ens allunyem del valor de calibratge. Per la de $5\text{k}\Omega$ es manté per sobre la línia en la zona central. I amb la de $10\text{k}\Omega$ també apareix un major error a mesura que ens allunyem del valor.

De les gràfiques anteriors es pot extreure que com més pròxim estigui el valor que volem mesurar al valor de la resistència de realimentació de l'etapa d'entrada menys error es cometrà en la mesura. Per tant tenim un rang reduït d'impedàncies que permet mesurar per una configuració determinada del xip.

Pel que fa a la resposta freqüencial es veu de les captures anteriors, que si baixes per sota dels 5000 Hz el sistema es desestabilitza i no fa mesures correctes, apareixent la resposta de la figura 4.8.

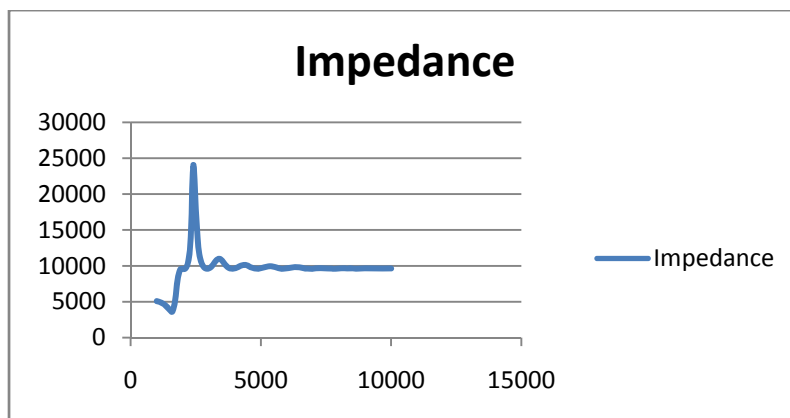


Fig. 4.8 Resposta freqüencial de l'AD5933.

Si es vol mesurar a freqüències baixes el full de característiques de l'AD5933 ens indica que fa falta modificar la freqüència de rellotge per tal de poder baixar dels 5 kHz i realitzar mesures correctament.

Dels experiments i els fulls de característiques del CI es poden definir unes limitacions:

- AD5933 només permet mesurar a 2 fils
- Marge freqüencial de mesura òptim de 5kHz fins a 100kHz, nosaltres volem treballar entre 10 Hz i 10 kHz. Necessitat de variar la freqüència de rellotge del sistema.
- Senyal d'excitació amb massa amplitud, ja que es volen senyals de l'ordre dels 10 mV per treballar en una zona lineal i, aquest sistema només permet una amplitud mínima de 100mV, més la component continua.
- La disminució de la freqüència de rellotge provoca un augment del temps de mesura.
- L'etapa de sortida presenta una impedància equivalent que depèn de l'excitació que es configuri. La taula 4.4 mostra el valor d'aquesta impedància equivalent de sortida.

Paràmetre	Valor	Resistència Sèrie Equivalent
Rang 1	3 V p-p	200Ω
Rang 2	1.7 V p-p	2.4 kΩ
Rang 3	0.58 V p-p	1 kΩ
Rang 4	0.3 V p-p	600 Ω

Taula 4.4 Rang de valors de la impedància equivalent de l'etapa d'entrada de l'AD5933.

La impedància equivalent de l'etapa de sortida variarà el valor real de la impedància mesurada si les impedàncies que volem mesurar són comparables, que per al nostre cas es poden considerar suficientment baixos com per tenir en compte el valor d'aquesta resistència sèrie.

4.2.3. Propostes per solucionar les limitacions

De les limitacions vistes abans es fa evident la necessitat de la realització d'un Front-End amb configuració de potenciostat que farà d'interfície entre el biosensor i l'AD5933.

Una de les primers necessitats es la de disminuir l'amplitud del senyal d'excitació. Del CI es poden obtenir senyals de fins a 150 mV p mínim i fins a 1.5 V p com a màxim alimentat a 5 V. Per aquesta raó ens es necessari introduir una etapa d'atenuació entre el sistema de mesura i el biosensor.

S'han optat entre dues propostes per la implementació de l'atenuador. Una opció seria realitzar un atenuador passiu amb resistències en configuració de divisor de tensió. O bé la possibilitat de fer un atenuador actiu amb un Amplificador Operacional (AO). La figura 4.9 mostra un circuit bàsic basat en un amplificador inversor.

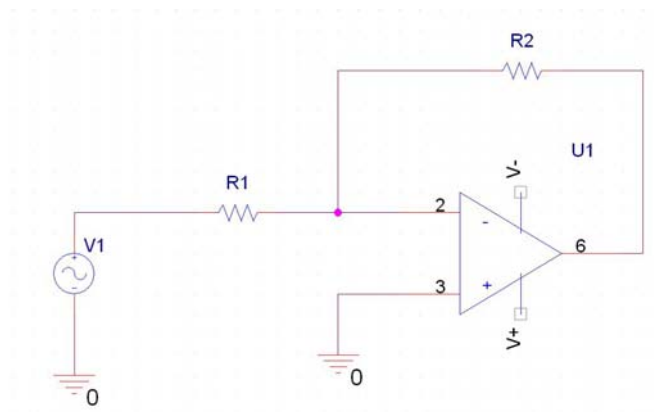


Fig. 4.9 Atenuador actiu basat en AO.

$$V_o = -V_{in} \frac{R2}{R1}$$

Un cop tenim el senyal d'excitació atenuat apareix el problema de la mesura a 3 fils, ja que el biosensor es de 3 elèctrodes. Per tal de solucionar-ho s'opta per incorporar una etapa

buffer amb AO. Tenint en compte l'estructura del biosensor, a on es tenen 3 terminals amb les designacions següents:

- Un terminal 'Counter Electrode' CE, que serà per on s'injecta el senyal d'excitació.
- Un terminal 'Reference Electrode' RE, que fa de node de referència de control de potencial.
- Un terminal 'Work Electrode' WE, que serà per on es fa la mesura.

D'aquesta forma es pensa en una etapa seguidora de tensió amb AO, amb l'esquema de la figura 4.10.

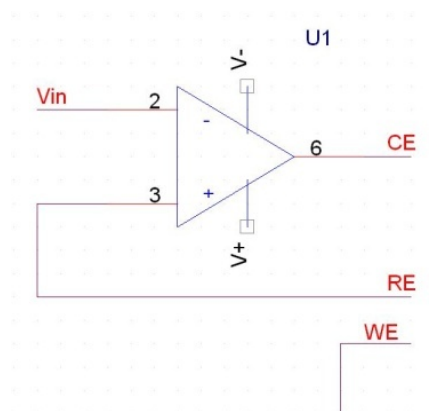


Fig. 4.10 Seguidor de tensió amb AO.

Una altra característica a tenir en compte es la possibilitat de treure la component continua i la possibilitat d'aplicar un senyal DC controlat, per tal de poder polaritzar el biosensor, per que treballi en una zona lineal, o bé, per a altres aplicacions possibles amb les que es pugui utilitzar el disseny. Aquesta decisió ens afecta a l'etapa d'atenuació.

Per una banda està l'etapa passiva amb resistències en configuració de divisor de tensió. Després d'aquesta etapa es passa directament al seguidor de tensió amb AO que fa de buffer amb el biosensor. Per tal d'afegir el nivell de continua desitjat es proposa un disseny com el de la figura 4.11.

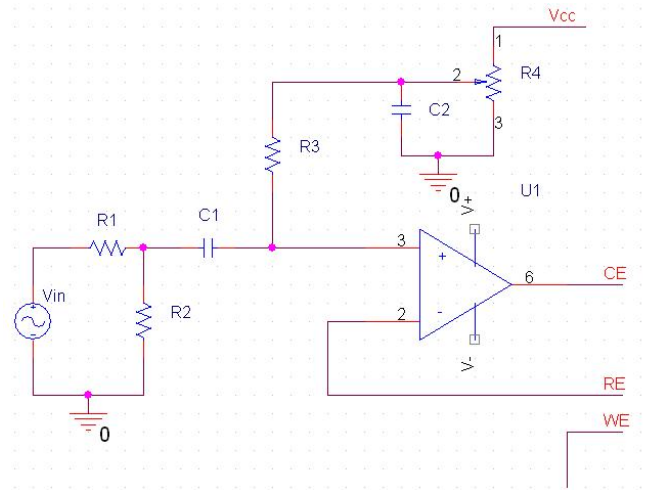


Fig. 4.11 Esquema que permet filtrar i introduir una tensió DC controlada per el cas passiu.

En aquest disseny es filtra la continua de l'etapa d'atenuació per mitja d'un condensador C1. Seguidament s'afegeix la continua amb un potenciòmetre R4 i C2 directament a l'entrada no inversora de l'AO. Per tal que en AC es vegi un node d'alta impedància des de el divisor implementat amb el potenciòmetre R4 i C2, per no modificar la resposta del sistema, el senyal es portarà a través d'una resistència de valor elevat, R3, fins al node de l'AO.

Pel cas d'utilitzar un atenuador actiu amb AO la solució es més fàcil, ja que només es necessari afegir la continua necessària a través del terminal no-inversor de l'AO. Com es veu a la figura 4.12, de l'anàlisi del circuit s'obté com el senyal continu que volem s'afegeix al senyal altern atenuat mostrat a l'equació.

$$V_o = V_{DC} \left(1 + \frac{R2}{R1} \right) - V_{in} \frac{R2}{R1}$$

A causa que la relació R2/R1 es petita, ja que s'aplicarà una atenuació gran, es pot determinar menyspreable en el terme que multiplica el senyal continu, quedant aquest multiplicat per 1.

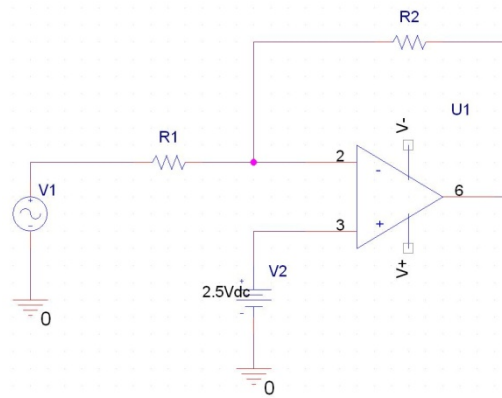


Fig. 4.12 Esquema que permet filtrar i introduir una tensió DC controlada per el cas actiu.

Com que el senyal d'excitació sofreix una atenuació, seria convenient restaurar el senyal de mesura per tal d'introduir-lo a l'etapa d'entrada de l'AD5933. S'ha optat per fer una implementació inversora amb amplificador operacional. La figura 4.13 mostra l'esquema del circuit utilitzat que utilitza la mateixa equació vista en la proposta de l'atenuador actiu.

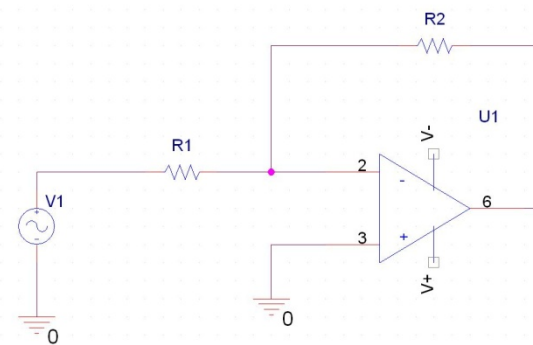


Fig. 4.13 Amplificador basat en AO.

Per una altra banda apareix el fet que el CI treballa fins a una freqüència mínima de 5 kHz i, el nostre sistema, a de poder fer mesures a baixes freqüències, de fins a 10 Hz. El full de característiques de la placa d'avaluació ens mostra un escrit relacionat amb aquesta limitació directa del xip. Com es pot deduir, per poder baixar a freqüències tant baixes s'haurà de modificar el rellotge del sistema, de forma que es puguin sintetitzar les freqüències desitjades amb el DDS intern. Això redueix la freqüència de mostreig de l'ADC a valors més baixos que 1MS/s. Per una altra banda en funció de la freqüència de rellotge utilitzada tindrem un rang de freqüències limitat de treball per cada freqüència de rellotge.

Del mateix full de característiques es pot extreure, que la freqüència màxima que permet treure el DDS està dividida per un factor 1/32, per tant, si tenim una freqüència de rellotge

de 1MHz, la màxima freqüència de sortida serà de 32.25 kHz. La taula 4.5 següent mostra els valors mínims assolibles.

Frequency Interval	AD5933 Lower Frequency ¹	Clock Frequency Applied to MCLK Pin ²
1	100 kHz to 5 kHz	16 MHz
2	5 kHz to 1 kHz	4 MHz
3	5 kHz to 300 Hz	2 MHz
4	300 Hz to 200 Hz	1 MHz
5	200 Hz to 100 Hz	250 kHz
6	100 Hz to 30 Hz	100 kHz
7	30 Hz to 20 Hz	50 kHz
8	20 Hz to 10 Hz	25 kHz

Taula 4.5 Valors mínims de freqüència de sortida del DDS per un rellotge determinat.

Per solucionar l'escalat de freqüència necessari, es proposen els següent circuits; el mateix fabricant proposa un parell de solucions, per una banda utilitzar un DDS com l'AD9834 que permeti sintetitzar la freqüència de rellotge. Aquest necessita bus SPI per tal de configurar-lo, a més d'elements externs per restaurar el senyal. Una altra solució seria utilitzar un divisor sencer com l'ADF4001, que també necessita de bus SPI. Per últim cap la possibilitat de fer un simple escalador amb circuits digitals utilitzant un comptador i un rellotge per tal de fer l'escalat i encaminar els rellotges amb un multiplexor.

4.2.4. Solucions adoptades

En aquest apartat es comenten les solucions adoptades per la realització del circuit final. Es detallarà el disseny realitzat per cada etapa i els components escollits.

L'etapa d'atenuació estarà formada pel circuit actiu amb AO. Aquest permet fer l'atenuació sense introduir elements capacitius en el camí del senyal que poden introduir soroll. A més a més permet la introducció d'una tensió continua per polaritzar el biosensor d'una forma menys intrusiva.

Per tenir una millor relació senyal soroll, es treballa amb la sortida d'amplitud màxima de l'AD5933, es a dir 3 V_{p-p} per a una alimentació de 5 V. Com que el biosensor s'ha d'excitar amb un senyal de pocs milivolts, de l'ordre de les desenes de mV, s'aplica una atenuació de 40 dB. Els valors de les resistències calculat es de $R_5 = 100 \Omega$ i $R_4 = 10 \text{ k}\Omega$, que donen un guany de 0.01 o -40 dB.

Degut a que s'utilitza una alimentació asimètrica es faran treballar els amplificadors a una tensió $V_{cc}/2$ per tal d'aprofitar al màxim el rang dinàmic i no saturar el senyal. Per a la polarització del sistema a $V_{cc}/2$ s'utilitza un CI que proporciona una tensió de referència. Com que treballem amb alimentació asimètrica a 5 V, la tensió de referència ha de ser de 2.5 V, que es un valor que existeix al mercat en format integrat. Sinó s'hauria d'optar a una altra alternativa, com per exemple fent un divisor de tensió amb resistències i un AO com a buffer per no sobrecarregar el divisor i obtenir una tensió estable. S'ha escollit un CI de tensió de referència de baix soroll i baixa deriva per tal de tenir un senyal el més net i estable possible, perquè no ens afecti al circuit. Aquest és un LM4140 de Texas Instruments. A l'esquemàtic respon al nom de Vmed. La figura 4.14 mostra el circuit final implementat.

La tensió continua de polarització del biosensor (V_{bias} en l'esquemàtic) vindrà determinada per un convertidor digital analògic (DAC) que treballi amb bus I²C, ja que així aprofitem el bus I²C amb el qual treballa l'AD5933. S'ha escollit un convertidor DAC que funcioni a 5V, de baixa potencia, amb una resolució de 12-bits, permet sortida Rail-to-Rail (RR) i comunicació I²C. El circuit escollit es el DAC7571 de Texas Instruments. Com que anirà connectat a l'entrada no-inversora d'un AO no necessita donar un corrent gran a la sortida.

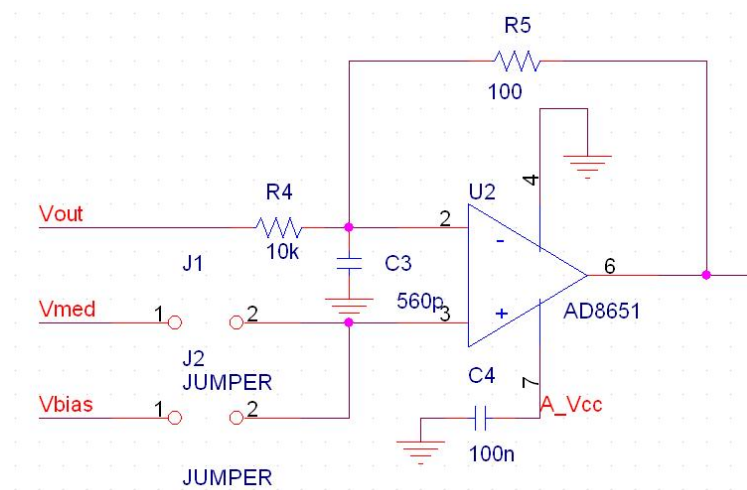


Fig. 4.14 Etapa d'atenuació, filtrat i polarització del senyal d'excitació.

La següent etapa és un potenciostat que permet injectar el senyal atenuat al biosensor. Aquest a de permetre fer mesures a 2 i 3 fils. El circuit utilitzat es un seguidor de tensió com es veu a la figura 4.15. El senyal atenuat prové de la sortida d'un AO operacional, aquest es connecta a l'entrada no-inversora del AO configurat com seguidor de tensió a

traves d'una resistència de $1k\Omega$ per permetre l'acoblament directe entre els dos circuits. Llavors la sortida del seguidor es connecta al terminal CE del biosensor i l'entrada inversora al terminal RE. D'aquesta forma es permet realitzar la mesura a tres fils, per fer la mesura a dos fils s'afegeix un jumper (J10) entre la sortida i l'entrada inversora.

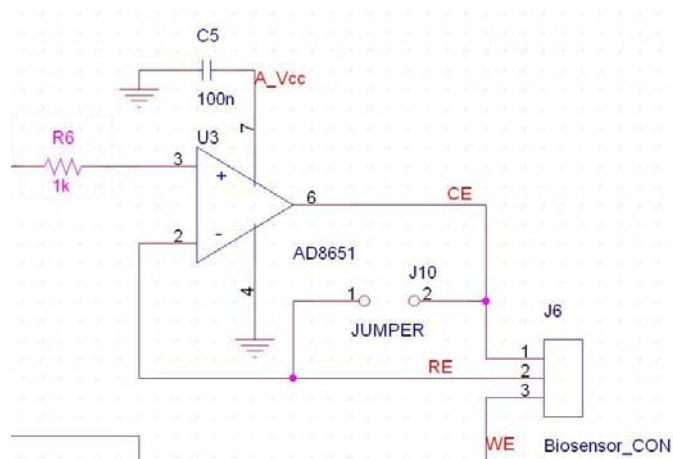


Fig. 4.15 Etapa búfer que permet excitar el sensor correctament.

Una proposta de última hora va ser la idea de poder realitzar mesures diferencials amb dos sensors. La idea és poder realitzar la mesura de dos tipus de bactèries amb el mateix sistema d'instrumentació. Per solucionar-ho es va arribar a la idea d'utilitzar un relè que permetés escollir entre un dels dos biosensors per cada mesura. Com que s'haurà de commutar entre dos biosensors, amb tres elèctrodes cadascú, es necessita un relè amb un mínim de tres commutadors.

Els biosensor estan col·locats sobre una plataforma amb electrovàlvules que permeten injectar la solució amb els elements patògens. La figura 4.16 mostra una imatge.

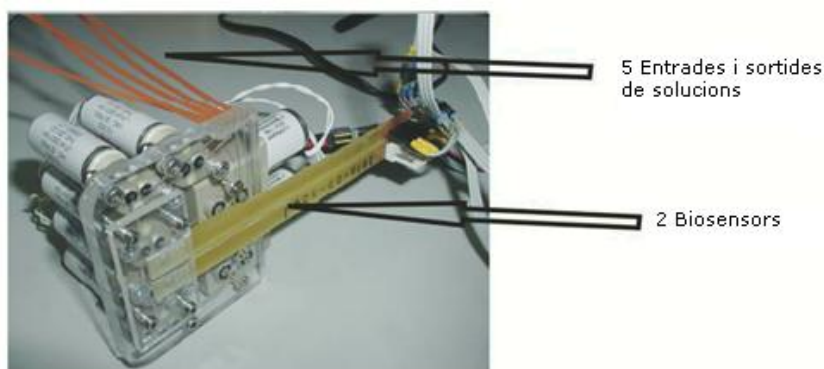


Fig. 4.16 Sistema de vàlvules i sensors per fer la mesura.

Ja que el sistema ha de tenir un mínim de portabilitat, i per no tenir un consum elevat, es decideix utilitzar relès d'enclavament. Aquest tipus de relè permet commutar entre un estat obert i tancat amb un pols de durada limitada. Al mercat vam trobar un model de Omron el G6AK-434. Aquest model està format per 4 interruptors SPDT i dos senyals de selecció, un de set i un de reset. Funciona a 5 V i consumeix uns 70 mA per commutació. Per tal de poder excitar les bobines s'utilitzen uns drivers de càrrega inductiva basats en transistor. Es va trobar un model de ON Semiconductors, el MDC3105-D. Permet treballar a 5 V i una potència de 2.5 W, que ja es suficient, ja que el model de Omron és de 360 mW.

Per últim, per tal d'excitar els drivers s'utilitzen dos sortides més del port digital de la interfície de NI, la utilització d'aquesta interfície es comenta a l'apartat següent. La figura 4.17 mostra el circuit resultant d'afegir el relè més els drivers.

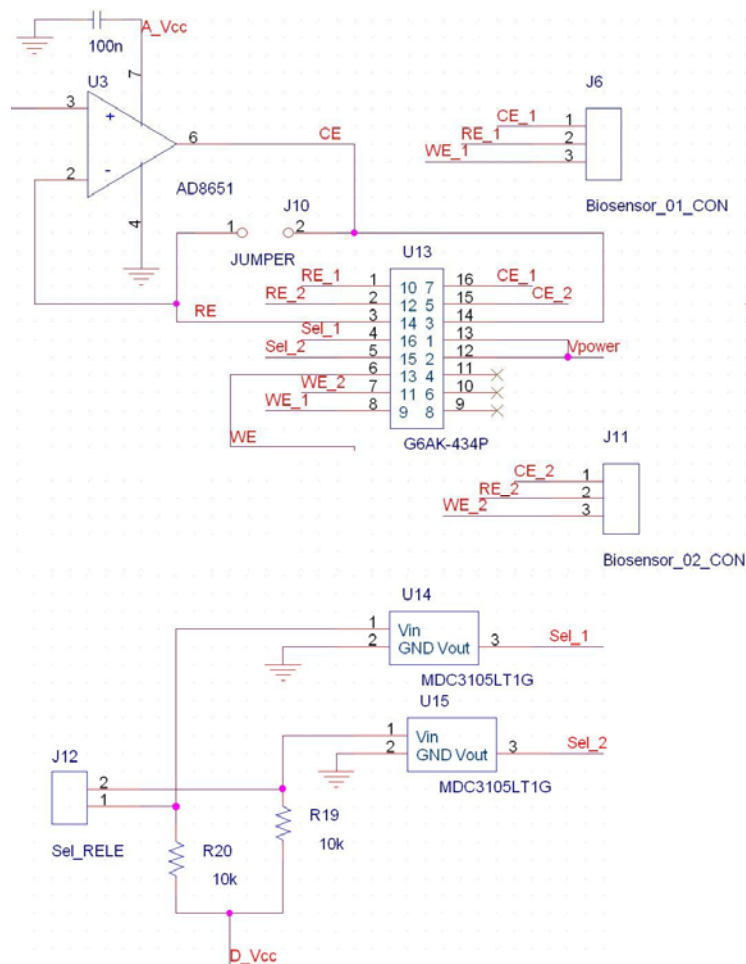


Fig. 4.17 Esquema del relè i drivers.

El pas següent és el disseny del circuit d'amplificació que permet restaurar el senyal atenuat a un senyal de major amplitud. Com que l'atenuació ha estat de 40 dB seria convenient obtenir una amplificació homònima. El problema està en que en la relació d'amplificació del circuit influeix la impedància del biosensor, de forma que el guany no serà de 40 dB en tot el rang. Com que el biosensor treballarà en un rang d'impedàncies entre 1k Ω i 10 k Ω , s'ha escollit un guany màxim pel valor mínim d'impedància. Per tant queda una R7 de 100 k Ω , que permetrà obtenir el valor de guany de 40 dB per la impedància mínima de 1k Ω . La figura 4.18 mostra el circuit. El condensador en paral·lel amb la resistència C6 de realimentació permet filtra el soroll indesitjat que pugui haver a freqüències superiors a les de treball.

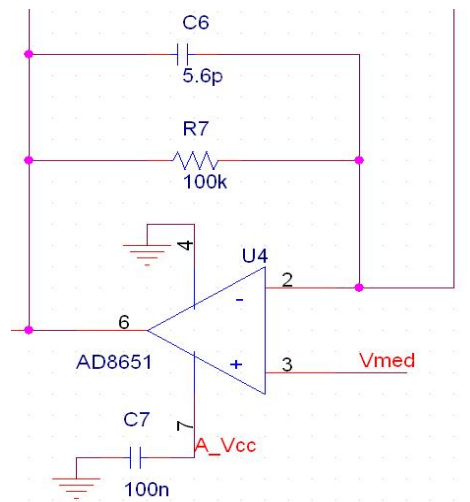


Fig. 4.18 Etapa de restauració del senyal mesurat.

Aquesta etapa ens limitarà el producte Guany-BW dels amplificadors operacionals a utilitzar degut al guany elevat. Com que el circuit farà mesures fins a 10 kHz necessitarem que l'AO tingui un BW major de 10 kHz per un guany de 100, per tal d'obtenir una resposta plana en freqüència.

Un problema que apareix en aquesta part és el fet de poder afegir una tensió continua de polarització. Degut a que aquesta tensió ens fa variar el punt de treball de l'AO i, en comptes de treballar a $V_{cc}/2$ treballa a tensions superiors o inferiors fent que la sortida de l'AO sature. Això és causa de que es treballen amb corrents en continua que es multipliquen per una resistència de realimentació elevada, provocant que a la sortida apareguin valors de continua elevats, i així saturen el senyal de sortida del AO.

Per solucionar-ho s'ha optat per afegir una segona etapa de restauració que elimina aquesta continua i retorna el senyal al punt de treball de $V_{cc}/2$ i l'amplifica. Aquesta etapa està basada també en una configuració en amplificador no-inversor AC amb AO. Primerament apareix una etapa de filtrat pas alt per tal d'eliminar la continua. Aquesta ve determinada per una xarxa RC amb valors $R10 = 33 \text{ k}\Omega$ i $C8 = 4.7 \text{ }\mu\text{F}$, corresponent a una freqüència de tall de 1 Hz. Com que el circuit funciona amb un punt de treball de $V_{cc}/2$ s'afegeix aquesta continua a través de R10. Aquesta etapa va connectada al terminal no-inversor de l'AO.

La relació d'amplificació ve determinada per l'equació sota del paràgraf. Per tant s'amplifica el senyal procedent de l'etapa filtrada, en funció dels valors dels components escollits, ja que R_i es la impedància que volem mesurar del biosensor. Ara aquesta etapa és la que aplicarà el guany de 40 dB, de forma que el circuit anterior treballarà com a buffer amb una resistència de realimentació de $1\text{k}\Omega$ per tenir un guany de 1 per al mínim valor d'impedància mesurable.

$$V_o = V_{in} \left(1 + \frac{R_{fb}}{R_i} \right)$$

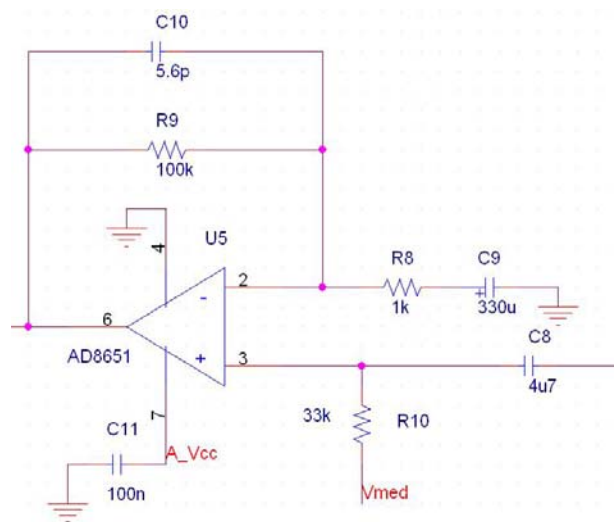


Fig. 4.19 Etapa de filtrat i condicionament del senyal mesurat.

La figura 4.19 mostra el circuit implementat. Com que treballem en alterna no volem que es produeixi amplificació en continua, per això apareix una xarxa RC connectada al terminal inversor de l'amplificador operacional. El funcionament és el següent: per senyals continus el condensador es comporta com un circuit obert i per tant l'AO està configurat com un seguidor de tensió i no aplica cap guany al senyal. Al contrari que en alterna, a on el

condensador es comportarà com un curtcircuit i per tant l'AO queda configurat com un amplificador no-inversor. La freqüència de tall de la xarxa RC a de ser el suficientment baix per tal de poder fer mesures a freqüències de fins a 10 Hz sense perjudicar al senyal. Per tant s'ha definit com a freqüència de tall un valor de 0.1 Hz, quedant amb els valors RC següents $R8 = 1k\Omega$ i $C9 = 330 \mu F$, amb un valor de freqüència calculat finalment de 0.48 Hz.

S'han afegit una sèrie de jumpers que permeten curtcircuitar l'etapa que elimina la continua i amplificar el senyal final. Aquests jumpers corresponen a J3, J4 i J5 en el circuit. Aquesta idea permet que el senyal a mesurar passi pel mínim nombre de components actius possible, i així reduir soroll, en funció de si s'aplica polarització al dispositiu de mesura o no.

Finalment per escollir l'AO que es volia utilitzar s'han seleccionat entre una sèrie d'AO de diferents fabricants amb les especificacions següents; volem un AO de baix soroll, que permeti treballar a una tensió asimètrica de 5 V, estabilitat a Guany 1, producte Guany-BW elevat, es a dir un Slew Rate elevat, i sortida Rail-to-Rail per tenir el major rang dinàmic de treball. L'amplificador operacional final escollit es l'AD8651, té un ample de banda de 50 MHz, baix soroll $4.5 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$, corrent de bias de 1pA típic, sortida Rail-to-Rail i alimentació entre 2.7 V i 5.5 V. A l'annex 8.7 es demostra la selecció de l'amplificador operacional.

Per la verificació de la funcionalitat del circuit, s'han fet les pertinents simulacions amb OrCad. S'han realitzat simulacions en l'espai temporal per confirmar que el senyal no es deteriora i, simulacions en l'espai freqüencial per confirmar que el sistema treballa en el rang de freqüències d'interès. S'ha omès la introducció d'aquestes dades per no estendre la memòria més del necessari.

Un cop realitzat el Front-End s'ha passat a fer el disseny de l'escalador de freqüències de rellotge per l'AD5933. Les dues alternatives que proposava el fabricant han estat eliminades, ja que necessitava un altre tipus de bus sèrie per a les comunicacions que el que ja estava definit. Per tant s'ha optat per realitzar el circuit amb lògica digital.

Per tal de fer la divisió de freqüències s'utilitza un comptador binari. Aquest ha de poder treballar a 5 V, llavors, s'ha escollit un de la família 74000 CMOS. Al mercat hem trobat el

74HC4024 que es un comptador binari de 7 bits que farà la funció de divisor. De la taula 4.5, a on es pot veure que es necessita arribar a 25 kHz per tal de poder sintetitzar un senyal d'excitació a 10 Hz, s'extreu que necessitarem una freqüència de rellotge màxima de 3.2 MHz. Al mercat existeixen varies alternatives per obtenir un rellotge, la principal, i potser més utilitzada, seria un cristall de quars, aquesta possibilitat necessita components addicionals per al seu funcionament. S'ha optat per una altra alternativa que consisteix en un CI que només cal alimentar a Vcc i ja obtens un senyal quadrat a la sortida a la freqüència especificada. Al mercat es troba el FSO-2LF a 3.8684 MHz de FoxElectronics que permet una alimentació de 5 V, té una sortida compatible amb HCMOS/TTL i permet l'habilitació/inhabilitació d'aquest. La freqüència mínima assolible pel divisor de freqüència llavors és de 30221 Hz.

Un cop tenim els rellotges necessaris per excitar l'AD5933 es necessita un distribuïdor per al rellotge. Un circuit digital que permet fer aquesta funció es el multiplexor. Per tal de tenir compatibilitat entre els diferents xips s'escolleix un de la mateixa família que el comptador binari. Al mercat existeix el 74HC151, que és un multiplexor de 8 bits, suficient ja que tenim 7 senyals a encaminar diferents, i dues sortides, una negada respecte l'altra. Es necessitaran tres senyals digitals per la selecció del rellotge que volem amb el multiplexor. La figura 4.20 mostra el circuit implementat amb les connexions entre el comptador i el multiplexor.

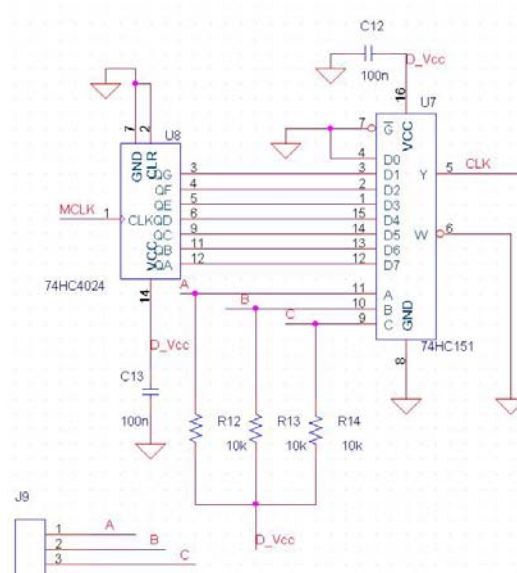


Fig. 4.20 Esquema del divisor de freqüència.

Finalment s'ha fet el disseny del sistema d'alimentació. S'ha separat l'alimentació dels components digitals dels analògics. De forma que s'han afegit dos reguladors de tensió a

5V per alimentar cada part. La limitació per escollir els reguladors ve imposada pel consum del circuit que es vol alimentar.

A la part analògica, els principals components són els AO, que consumeixen un màxim de 15mA, per una altra banda esta la referència de tensió a 2.5V que té un consum màxim de 230 μ A i, finalment, al convertidor DAC que té un consum de 200 μ V. Per tant el consum màxim per l'alimentació analògica serà de 60 mA. A més es vol que tinguin una baixa deriva per tal de tenir el senyal més pur possible per no afectar així els senyals de mesura de baix valor.

A la part digital tenim l'AD5933, que també té alimentació analògica però no esta dividit en el full de característiques, amb un consum de 25 mA. Després està el circuit divisor de freqüència que està format per el 74HC4024 i el multiplexor 74HC151, a on el consum vindrà determinat en funció del consum de les entrades i les sortides connectades. Del full de característiques s'extreu que el corrent d'entrada requereix es de 1 μ A, per tant les connexions entre el comptador i el multiplexor tindran un consum de 7 μ A. Entre la sortida del multiplexor i l'AD5933 ens es desconegut ja que no be determinada però es suposa que és baix. Per tant, tot el consum vindrà bàsicament determinat pel AD5933.

De les condicions anteriors s'ha trobat un regulador de Texas Instruments, el TPS76650, que compleix tots els requisits. Permet un consum de 250 mA, una tensió de dropout màxima de 140 mV, i una tensió fixa de 5 V.

A l'annex 8.1 es mostra l'esquemàtic PSPICE que representa tot el disseny implementat explicat fins ara.

Per la realització física del circuit s'ha utilitzat l'eina OrCad Layout Plus. A l'annex 8.2 es mostra el layout implementat seguint les tècniques explicades a continuació. Degut a la interacció entre senyals digitals i analògics s'ha intentat separar al màxim les dues parts per evitar la interferència entre elles. La distribució dels components damunt la placa pot ser la primera solució per tal d'evitar les interferències. La figura 4.21 mostra la distribució utilitzada.

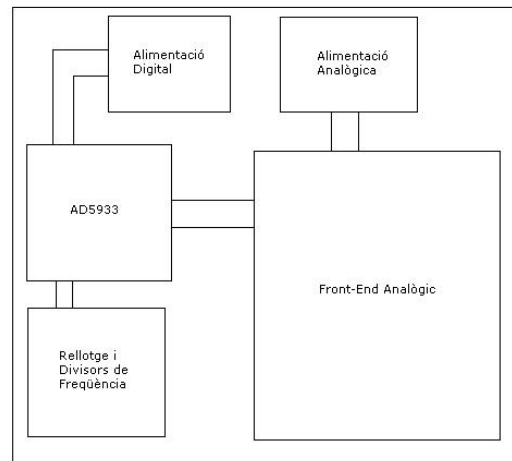


Fig. 4.21 Distribució dels components sobre la placa de circuit imprès.

Per una altra banda s'ha considerat el fet d'utilitzar alimentacions separades i fer un pla de terra per a cada alimentació, per evitar llaços de terra. Si es té en compte la distribució de components anterior, es veu com els plans de terra aniran distribuïts com els de la figura 4.22.



Fig. 4.22 Plans de terra corresponents a la part digital i analògica.

Finalment per tenir una alimentació el més constant en tots els punts s'han fet les pistes d'alimentació de 0.5 mm, a més d'ampliacions en les zones de la placa amb més espai, per tal de disminuir així la seva impedància, i mantenir la tensió al mateix potencial en cada punt, encara que vindrà determinada pel punt de menys amplitud.

A l'annex 8.8 s'afegeixen fotos de la implementació física del circuit

4.3. Disseny del Sistema de Control

Un cop fet el disseny del circuit necessitarem una interfície que permeti a l'usuari controlar el sistema de la forma més senzilla possible. La idea es utilitzar el PC com a interfície utilitzant el port USB d'aquest. Com que el sistema treballa amb bus I²C necessitarem fer una conversió entre els protocols del bus USB i el bus I²C per tal d'adaptar els senyals de comunicació de cada part.

En aquest apartat s'explica quina solució s'ha optat per resoldre la conversió entre USB i I²C, per tal de poder connectar el sistema al PC. Per una altra banda s'explicarà la interfície software creada per interactuar amb l'usuari de forma senzilla i ràpida.

4.3.1. Propostes de disseny

A causa que els busos I²C i USB no són compatibles ni en senyals ni en protocol, és necessari crear una interfície que capturi les dades d'un i les envii per l'altre bus correctament i visversa.

Una primera proposta seria utilitzar una interfície basada en microcontrolador. Al mercat hi ha molts fabricants de microcontroladors, però, per donar un exemple, es pot utilitzar un PIC18F que està basat en una arquitectura de 8 bits, i permet realitzar connexions USB i I²C en el mateix xip.

Si es vol utilitza una interfície basada en microcontrolador es necessari conèixer bastant bé el funcionament dels dos busos, a nivell físic i de protocol; coneixement del funcionament i estructura interna del microcontrolador per tal d'optimitzar el firmware; necessitat de fer un disseny físic complementari. A més d'haver de fer dos softwares, un per programar el microcontrolador i un altre per fer la interfície amb el PC, necessitant conèixer la interfície de programació d'aplicacions (API) necessària per programar el bus USB. Finalment serà necessari utilitza un entorn de programació de l'estil Visual basic o Visual C per implementar l'aplicació que farà d'interfície amb l'usuari.

Per una altra banda existeix la possibilitat d'utilitzar un sistema integrat que ja realitzi aquesta funció. National Instruments (NI) té una sèrie d'interfícies que permeten realitzar aquest tipus de conversions. En concret el NI USB-8451 és una interfície que permet

convertir entre USB i SPI/I²C. Aquesta alternativa és més ràpida que l'anterior i no es necessari tenir un coneixement extens sobre els busos. A més permet utilitzar les VT's de LabView que també fan transparent el coneixement de l'API per utilitzar el bus USB del PC. En aquest cas, per tant, s'hauria d'utilitzar obligatòriament l'eina LabView per tal de fer la interfície amb l'usuari, encara que el fabricant aporta les API's necessàries per utilitzar qualsevol altra plataforma.

4.3.2. Solucions adoptades

Aquest apartat tracta les solucions adoptades per realitzar la interfície entre el PC i el hardware i la realització de la interfície software amb l'usuari.

De les propostes anteriors per fer la conversió entre el bus USB i I²C ens quedem amb la de NI. El NI USB-8451 és una interfície USB que proporciona comunicació I²C i SPI per a la interacció amb dispositius com memòries EEPROM, microcontroladors i ADCs. Com que treballa amb el bus USB té una fàcil connexió Plug-and-Play amb el PC. Adjunta els drivers amb funcions d'alt nivell de LabView que permeten un desenvolupament ràpid i fàcil.

El USB-8451 conté una interfície màster I²C que pot treballar a una freqüència de rellotge de fins a 250 kHz. El farem treballar amb una adreça de 7-bits, ja que l'AD5933 conté una adreça de 7-bits. Té també una interfície màster SPI que pot treballar a una freqüència de rellotge de fins a 12 MHz, amb la possibilitat de connectar-hi fins a 8 dispositius. Conté un port de 8 entrades/sortides digitals configurables. S'alimenta a través del bus USB.

Per al sistema implementat només s'utilitzarà la interfície amb el bus I²C i 5 bits del port digital. L'AD5933 permet freqüències de rellotge de fins a 400 kHz com a màxim, per al bus sèrie. Com que el USB-8452 només permet freqüències de fins a 250 kHz vindrà limitat per aquest, i es configurarà el sistema perquè treballi amb una freqüència de rellotge de 200 kHz. La interfície del bus està formada per un driver i un transistor en col·lector obert, aquesta configuració necessita una resistència de pull-up per funcionar correctament. El valor d'aquesta sol estar entre 2 k Ω i 10 k Ω , s'ha de tenir en compte que si la longitud del bus és molt gran ens pot afectar la integritat del senyal degut a les capacitats paràsites i el valor de la resistència de pull-up. En aquest cas les connexions seran curtes i s'opta per un valor de resistència de 4.7 k Ω .

Ara que ja es té tota la interfície hardware dissenyada per interactuar amb el PC es realitza la interfície software. S'utilitzarà el programa LabView per tal de facilitar el disseny software.

4.3.2.1. Drivers

Una de les propietats del LabView es la de permetre realitzar drivers de forma ràpida. Aquests permetran definir una sèrie de VI's d'alt nivell que faran invisibles les funcions de baix nivell i simplificaran el treball a l'hora de realitzar el disseny del programa.

Si analitzem l'AD5933 tenim un sistema que ens permet realitzar mesures d'impedància a una freqüència determinada o bé realitzar un escombrat freqüencial. Per tant, la idea es realitzar un driver que permeti realitzar una mesura d'impedància a una freqüència determinada. S'opta a fer-ho així, degut que l'AD5933 només permet realitzar escombrats de freqüència de forma lineal, i no permet fer-ho de forma logarítmica. Llavors programant el xip per fer només la mesura a una freqüència es pot fer el increment lineal o logarítmic per programa.

L'AD5933 conté una sèrie de registres que s'han d'inicialitzar per tal de fer la mesura. Aquests són:

- '*Start Frequency*': que guarda la freqüència d'inici de l'escombrat.
- '*Frequency increment*': que es el valor del increment de freqüència que es vol fer.
- '*Number of increments*': serà el numero d'increments. De forma que *Frequency increment* multiplicat per *Number of increments* i sumat a *Start Frequency* donarà el valor de freqüència d'stop.

Llavors per cada registre s'ha creat un SubVI que permet programar-ho. El primer registre es l'*Start Frequency*, aquest ocupa tres posicions de memòria en el dispositiu, cada posició es de 8 bits, per tant es tenen els 24 bits que determinen la freqüència que generarà el DDS. La figura 4.23 mostra el diagrama generat.

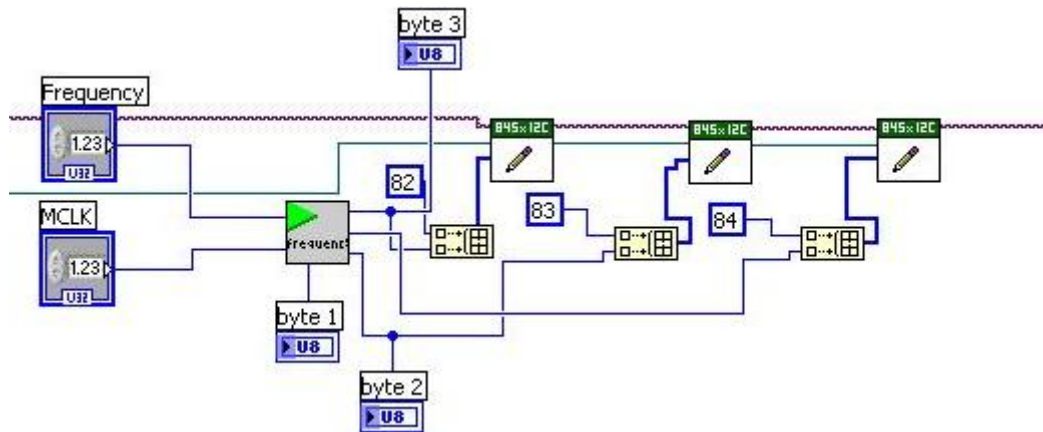


Fig. 4.23 Programació del registre Start Frequency.

Al SubVi se li passen principalment la freqüència inicial que volem programar i el valor del rellotge del sistema. El valor que es programa al registre ve determinat per l'equació següent.

$$\text{Start Frequency Code} = \left(\frac{\text{Start Frequency}}{\frac{MCLK}{4}} \right) \times 2^{27}$$

Aquesta equació s'implementa mitjançant un altre SubVI anomenat Frequency(SubVI).vi, es la caixeta gris amb una fletxa verda de la figura. Aquest, a més, retorna ja els tres bytes necessaris per programar els registres. Per tal de fer l'escriptura s'utilitzen els drivers que venen amb la interfície USB-8451 (les caixetes amb un llapis). A aquest se li passen els bytes que es volen escriure, una referència del dispositiu utilitzat i la configuració del bus, i ja realitza l'escriptura segons el protocol del bus, fent-ho totalment transparent per nosaltres. Es programen les posicions de memòria 0x82 a la 0x84.

El següent es el registre per el valor d'increment, *Frequency Increment*. Es igual que l'anterior excepte que només canvien les posicions de memòria que es volen programar, en aquest cas de la 0x85 a la 0x87. La figura 4.24 mostra el diagrama realitzat.

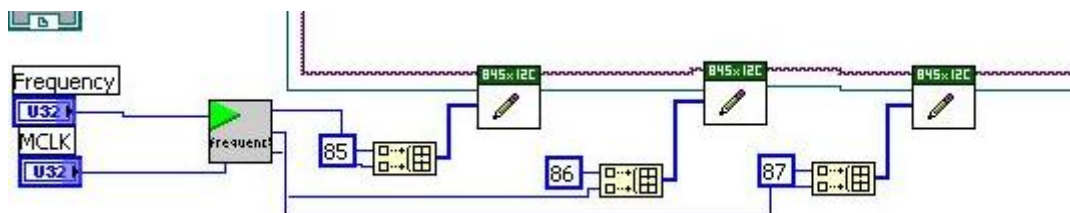


Fig. 4.24 Programació del registre Frequency Increment.

Per una altra banda està el nombre d'increments que es volen realitzar. Segons el full de característiques ens diu que el valor màxim que es pot escriure es de 511 increments, que equivalen a una codificació amb 9 bits. Les posicions de memòria que ocupa són la 0x88 i la 0x89. Del bit 9 al 15 son menyspreables. El valor emmagatzemat determinarà el nombre d'increments que s'han d'aplicar, que per al cas que volem plantejar té valor 0, ja que només volem mesurar a una freqüència. La figura 4.25 mostra el diagrama.

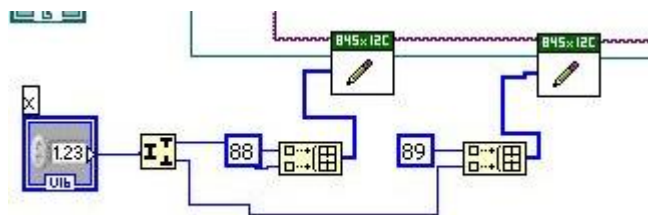


Fig. 4.25 Programació del registre Number of Increments.

Amb la programació d'aquests tres registres el xip ja estaria preparat per realitzar la mesura. Faltaria un altre registre que determina el nombre de cicles del senyal d'excitació que ens volem esperar abans de fer la mesura. Això pot ser útil si la mostra té una resposta lenta. Aquest registre es el '*Number of Settling Time Cycles*', que ocupa les posicions 0x8A i 0x8B. La taula 4.6 mostra la funció dels bits.

Register	Bits	Description		
0x8A	D15 to D11 D10 to D9	Don't care		
		2-bit decode		
		D10	D9	Description
		0	0	Default
		0	1	No. of cycles \times 2
	D8	1	0	Reserved
		1	1	No. of cycles \times 4
		MSB number of settling time cycles		
0x8B	D7 to D0	Number of settling time cycles		

Taula 4.6 Configuració del Bits del registre Number of Settling Time Cycles.

De la taula es veu com només utilitza 9 bits per configurar el nombre d'increments, per tant un total de 511 increments, a més té un factor multiplicador per 2 i per 4, poden arribar fins a un màxim de 2044 cicles d'espera. La figura 4.26 mostra el diagrama implementat.

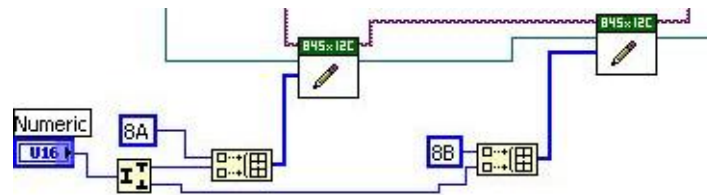


Fig. 4.26 Programació del registre Number of Settling Time Cycles.

Finalment s'han fet dos SubVIs més, que permeten llegir la part real i la imaginària un cop s'ha fet la mesura. El registre de la part real està format per les posicions de memòria 0x94 i 0x95. I les posicions de la part imaginària són 0x96 i 0x97. La figura 4.27 mostra els diagrames realitzats. Per tal d'accedir als registres es necessita col·locar el punter de la memòria al valor desitjat que es vol llegir. Això es fa amb la comanda 0xB0.

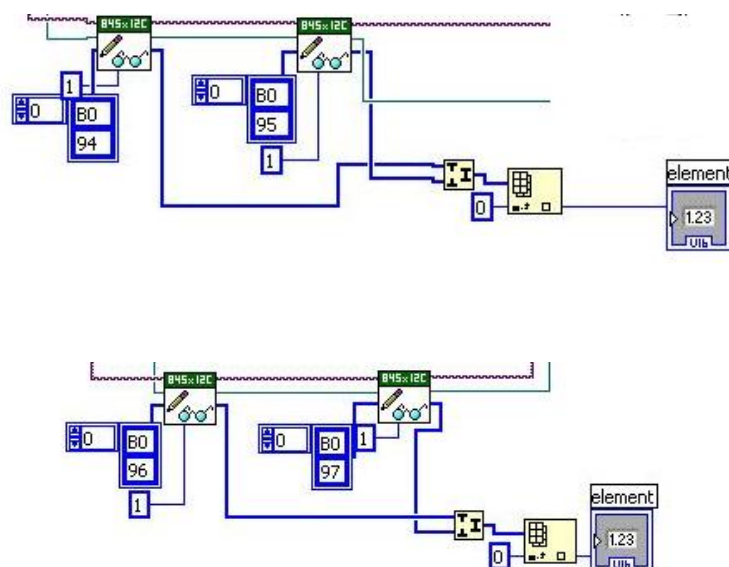


Fig. 4.27 Lectura dels registres que contenen la par real i imaginària.

El pas següent ha estat implementar el driver que realitza la mesura a una freqüència utilitzant els SubVIs explicats. El driver no permet programar l'escombrat lineal del dispositiu, ja que no el farem anar, per tant, els registres que determinen el valor d'increment de freqüència i el nombre d'increments tindran un valor 0. Partint dels drivers anteriors es poden definir les entrades i sortides que tindrà el nou driver vist a la figura 4.28.

Entrades

- Freqüència.

- El increment de freqüència.
- Numero d'increments a realitzar.
- Nombre de cicles d'espera.
- Rellotge del Sistema.

Sortides

- Valor de la part Real.
- Valor de la part Imaginaria.

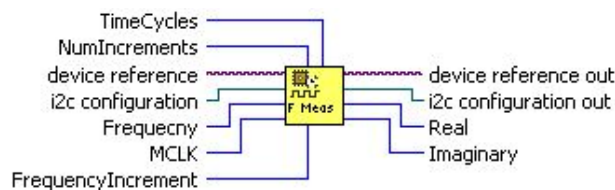


Fig. 4.28 Entrades i Sortides del SubVi que realitza la mesura a uja freqüència.

Amb les entrades i sortides definides es passa a realitzar el diagrama per definir el funcionament. S'ha utilitzat una estructura seqüencial per tal d'anar fent els passos un a un. El fabricant ens dona un diagrama de blocs per tal de realitzar un escombrat, que ens servirà com a guia, es mostra a la figura 4.29.

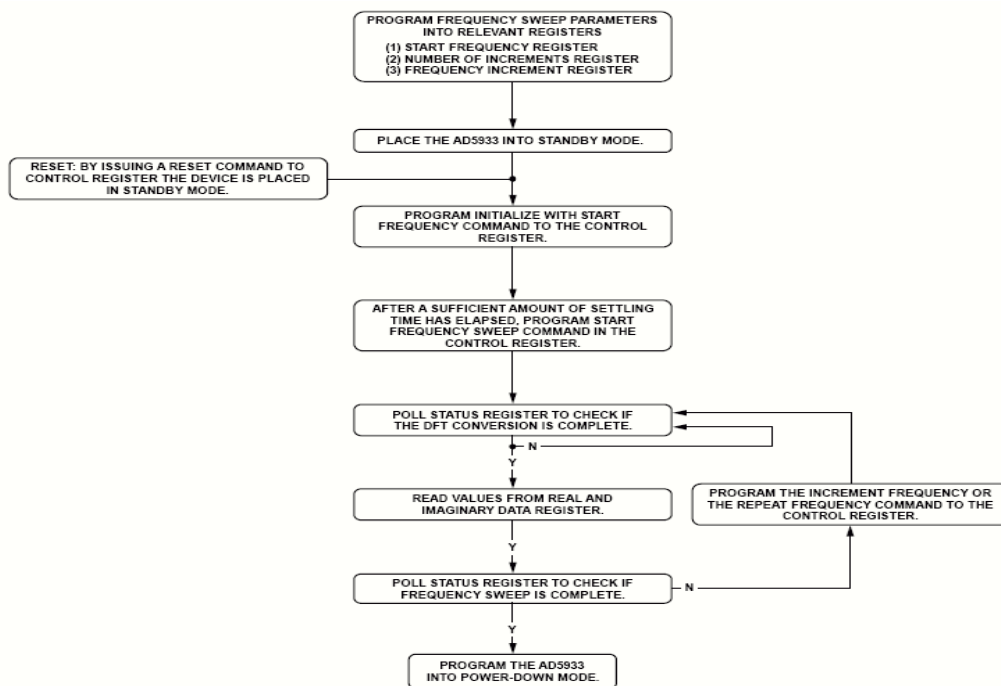


Fig. 4.29 Diagrama de flux per realitzar un escombrat amb l'AD5933.

Del diagrama de blocs es veu com el primer pas es programar els paràmetres per fer la mesura de la freqüència, s'utilitzaran els subVIs implementats anteriorment. El diagrama en LabView llavors queda com el de la figura 4.30.

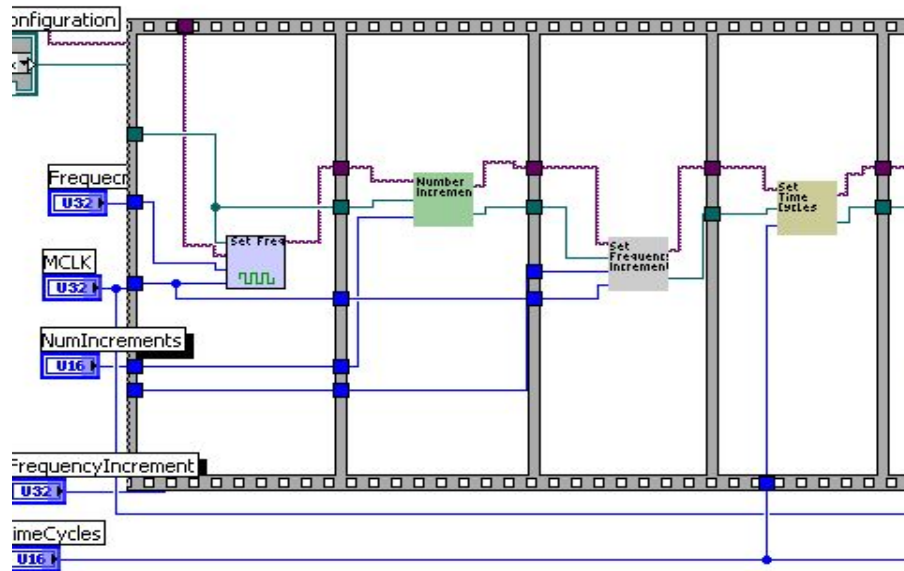


Fig. 4.30 Programació del registre de configuració de la mesura.

Primer es fa la programació de la freqüència a mesurar, després definim el nombre d'increments per l' escombrat, seguidament el valor de la freqüència d'increment i finalment el nombre de cicles del senyals que ens esperarem abans de fer la mesura.

Un cop configurats els paràmetres de freqüència ens diu que posem el dispositiu en mode *standby* i activem el senyal d'excitació. Això es fa programant el registre de control que esta en les posicions de memòria 0x80 i 0x81. A més ens aconsella esperar un temps d'establiment abans de començar a fer la mesura. La figura 4.31 mostra el diagrama.

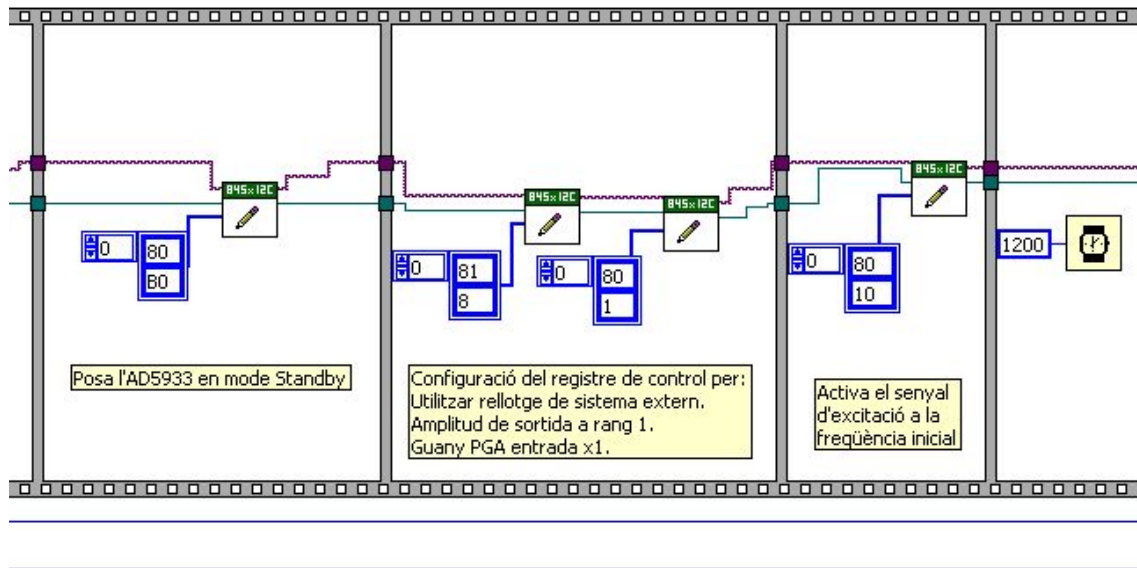


Fig. 4.31 Posta en Standby, configuració del sistema i activació del senyal d'excitació.

Abans d'activar el senyal d'excitació es configura el registre de control per tal que l'AD5933 utilitzi el rellotge extern, l'amplitud del senyal estigui en el rang 1, es a dir 3 V_{p-p}, i que el guany del PGA de l'etapa d'entrada tingui un guany 1.

El pas següent es realitzar la mesura. Per saber que la mesura ja ha acabat i es tenen les dades disponibles, hi ha una bandera indicadora al registre d'estat, es el bit 2 d'aquest registre. Fent proves es va comprovar que aquesta bandera no funcionava correctament i s'activava quan volia, per tant, es va optar per esperar el temps que tarda en fer la mesura i el nombre de cicles del senyal d'excitació d'espera. Per calcular el temps s'ha de tenir en compte el valor del rellotge del sistema, la freqüència a la que es fa la mesura i el nombre de cicles d'espera, establint l'equació següent:

$$\text{Temps a esperar} = \left[\left(\frac{1}{MCLK} 16384 \right) + \left(\frac{1}{\text{Freqüència}} \text{Nombre de cicles} \right) \right] \times 1000$$

Hi ha dos termes un corresponent al temps de conversió i l'altre degut als cicles d'espera del senyal d'excitació. El numero que multiplica al període de rellotge ve donat pel temps de conversió de l'ADC. Aquest tarda 16 cicles de rellotge en fer una conversió, a més de realitzar 1024 conversions per tal de fer la DFT. Finalment es multiplica per 1000 per tenir les dades en milisegons. La figura 4.32 mostra el diagrama.

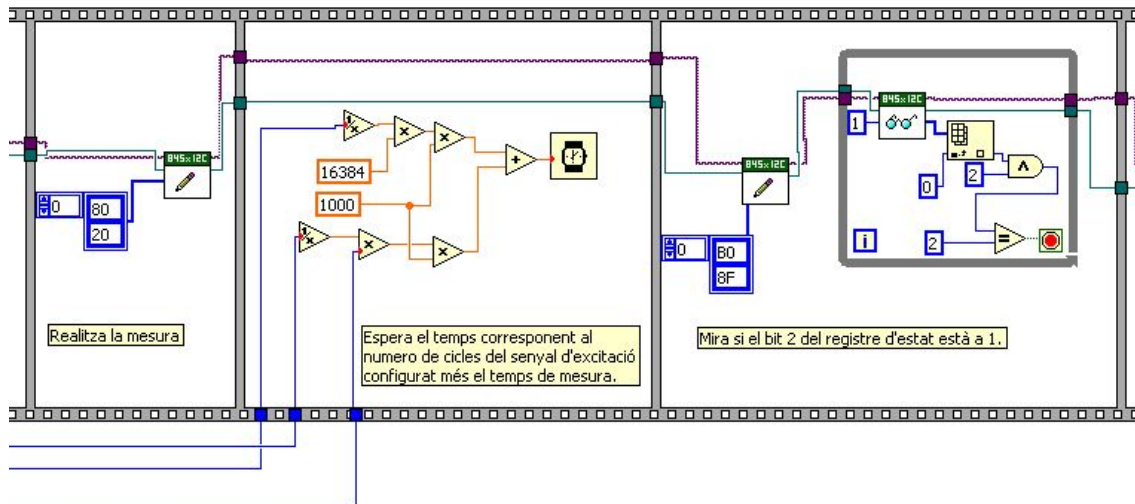


Fig. 4.32 Realització de la mesura i espera del temps per llegir les dades.

Un cop feta la mesura es llegeixen els registres que contenen la part real i imaginària. La figura 4.33 mostra el diagrama.

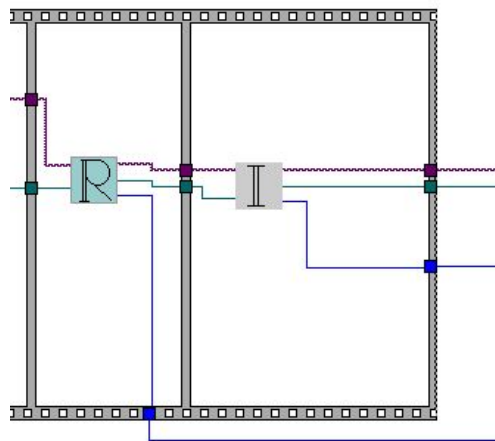


Fig. 4.33 Lectura de la part real i imaginària.

L'annex 8.4 mostra els diagrames per els diferents VI's implementats.

4.3.2.2. Interfície d'Usuari

La interfície d'usuari està dividida en dos parts fonamentals: els controls que configuren la mesura i els mòduls de visualització, que permeten veure els resultats de la mesura en un format adequat per al seu anàlisi. El programa en sí està destinat a la caracterització del

sistema, ja que la interfície d'usuari final a d'incloure parts fetes per altres socis del projecte, té una finalitat funcional per permetre el seu ús independent..

Els controls de configuració venen determinats per les possibilitats del sistema dissenyat, per tant, apareixen uns controls bàsics:

- Introducció de la freqüència d'inici i d'stop, el numero de punts a mesurar per dècada i el numero de cicles d'espera abans de fer la mesura, per tal de poder fer l'escombrat freqüencial.
- Selecció del biosensor els entre dos possibles canals.
- Introducció del valor de la impedància de calibració.
- Introduir d'una tensió de polarització.
- Controls per activar la calibració i la mesura.

Pel que fa a la visualització de les mesures s'han afegit els panells necessaris per treure'n la informació necessària.

- Representació del mòdul i la fase.
- Representació de la part real i imaginària
- Representació de la part imaginària versus la part real (diagrama de Wessel o Cole-Cole) i resultat de l'ajust a model.

La figura 4.34 mostra el panell de control dissenyat. S'ha optat per una distribució típica d'aparell de mesura, col·locant els visualitzadors a la part esquerra i els controls a la part dreta del instrument virtual. Unes línies separadores permeten aclarir millor la distribució i la funcionalitat.

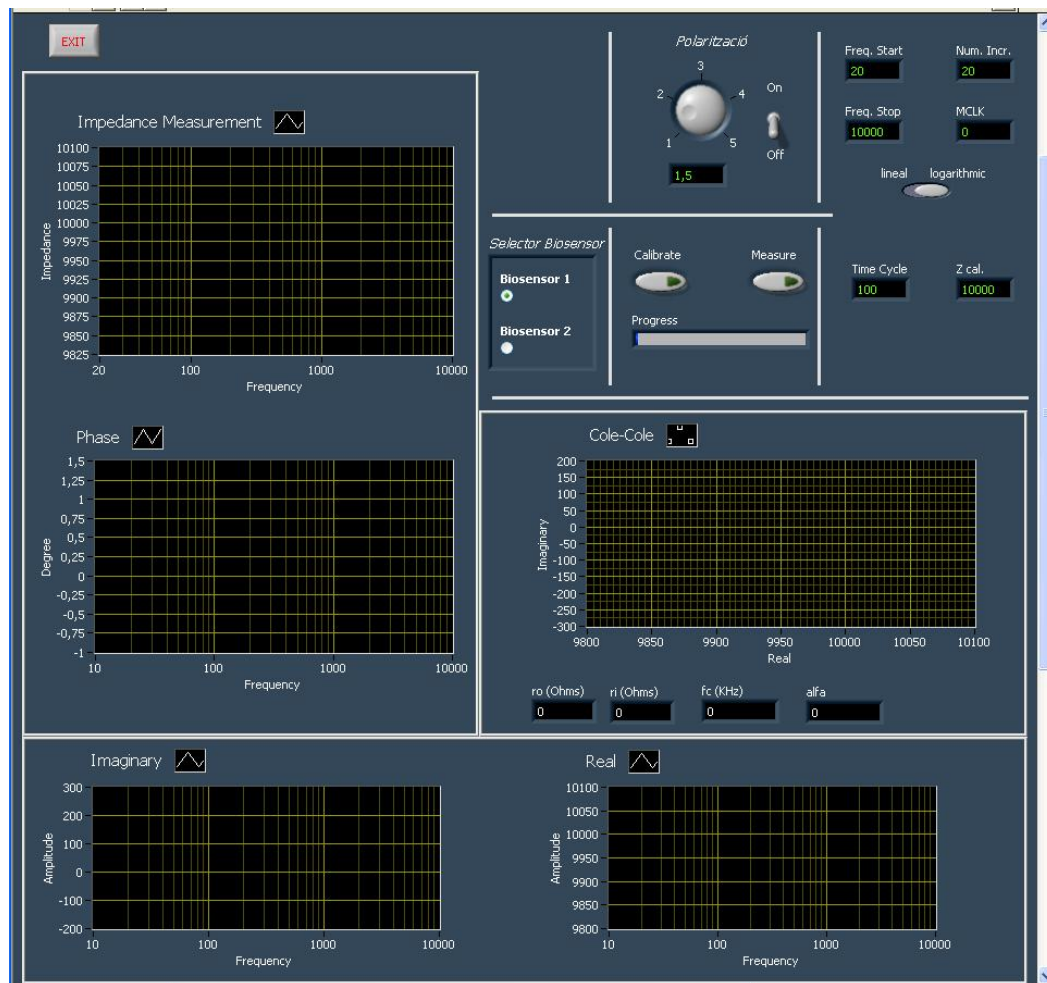


Fig. 4.34 Esquema de la interfície d'usuari implementada.

4.3.2.3. Blocs Principals

L'aplicació està formada per una sèrie de blocs que porten a terme les funcions principals. Un dels blocs realitza el càlcul dels valors de calibració del sistema. Per una altra banda hi ha un bloc que fa el procediment de mesura aplicant el calibratge. I finalment un bloc que realitza el càlcul de les freqüències a mesurar en funció dels paràmetres introduïts com la freqüència inicial, la freqüència d' stop i el numero de punts per dècada.

A l'apartat 4.2.1 d'aquest mateix capítol s'ha vist com es pot fer una calibració calculant un factor de guany que es proporcional al valor de la impedància de referència, segons l'equació extreta. Llavors la impedància es pot calcular amb l'equació que incorpora la correcció amb el factor de guany. També es fa una calibració de la fase.

Per dur a terme la calibració es realitza un escombrat, utilitzant el subVI definit anteriorment, mesurant a cada punt de freqüència i calculant el seu factor de guany i la fase

respectiva. Aquests valors s'emmagatzemen en un registre de desplaçament que permetrà recuperar les dades per utilitzar-les a la mesura. El diagrama LabView implementat es veu a la figura 4.35, dins la circumferència vermella es veu com s'implementa l'equació per calcular el factor de guany amb VIs de LabView, i en un mathscript amb codi matlab el càlcul de la fase relativa entre la part real i la imaginària. El conjunt està dins un llaç que farà la mesura a totes les freqüències de l'escombrat.

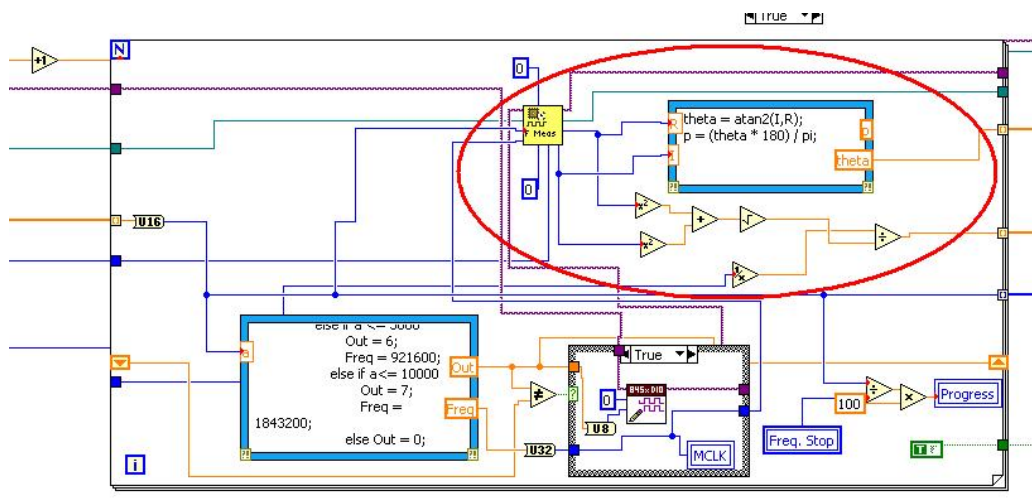


Fig. 4.35 Bloc que calcula els valors de calibració.

Un cop calculat els valors de calibració del sistema es pot fer la mesura. El bloc de mesura és idèntic al de calibració excepte que s'aplica la correcció del mòdul i la fase. A més es calcula la part real i imaginària amb el valor adequat per ser representades, i es guarden les dades en un arxiu que permet ser obert amb un programa de càlcul tipus excel. La figura 4.36 mostra el diagrama implementat.

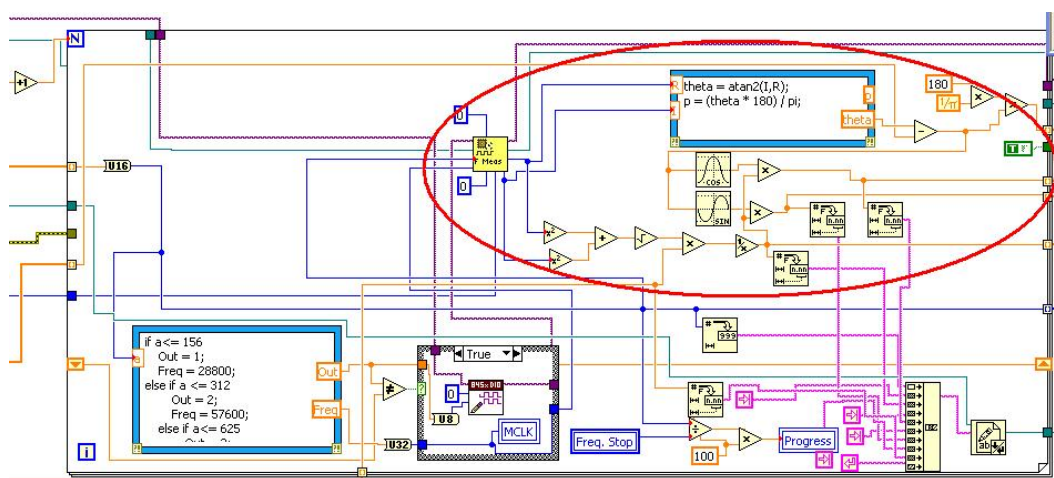


Fig. 4.36 Bloc que realitza la mesura i calcula les dades per la correcta representació.

Per calcular les freqüències a les que cal fer la mesura s'utilitza un mathscip amb codi matlab. Hi ha dos possibilitats, fer un increment lineal o bé un increment logarítmic. Per tant el conjunt està dins un bloc switch case controlat per un interruptor. La figura 4.37 mostra el diagrama. Els respectius codis complets es troben a l'annex 8.5.

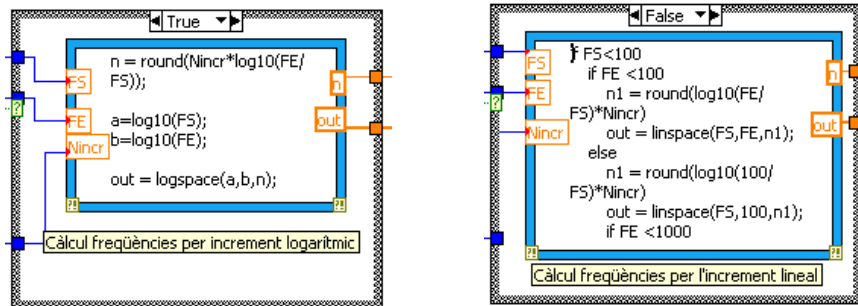
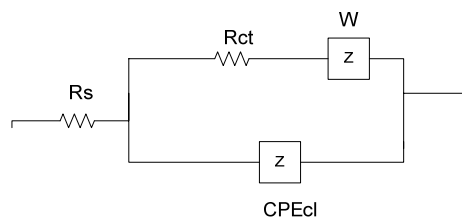


Fig. 4.37 Càlcul dels punts de freqüència per l'escombrat lineal i logarítmic.

4.3.2.4. Ajust a Model

Com s'ha vist a l'apartat 3.4 de modelat de biosensors, aquests presenten un circuit equivalent elèctric com el vist a la figura 3.9. Aquest tipus de model té una representació característica del diagrama de Wessel que respon a un arc de circumferència.



A causa de que no es possible realitzar un escombrat de freqüències en tot l'espectre freqüencial, i el nostre sistema té un ample de banda que va de 10 Hz fins a 10 kHz, s'opta per utilitzar un algorisme que permet realitzar un ajust a la corba esperada a partir dels valors mesurats, del que es poden extrapolar els valors a freqüències més baixes i més altes.

Es parteix de la funció Matlab que implementa l'ajust a l'arc i n'extreu els paràmetres [ref]. L'aproximació es basa en la representació de l'arc de Cole-Cole per a relaxacions que es pot veure a la figura 4.38. La funció de matlab està formada per les següents entrades/sortides:

Encapçalament:

function [ro,ri,alf,fc,ecm2]=colez2(r,i,f);

Entrades:

- r: el vector amb els valors reals mesurats.
- i: el vector amb els valors imaginaris mesurats.
- f: el vector de freqüències a les que s'ha fet la mesura.

Sortides:

- ro: la impedància per freqüència 0 Hz.
- ri: la impedància per freqüència infinit.
- fc: la freqüència en que la part imaginària té el màxim valor.
- alf: el grau de depressió de l'arc de la circumferència.

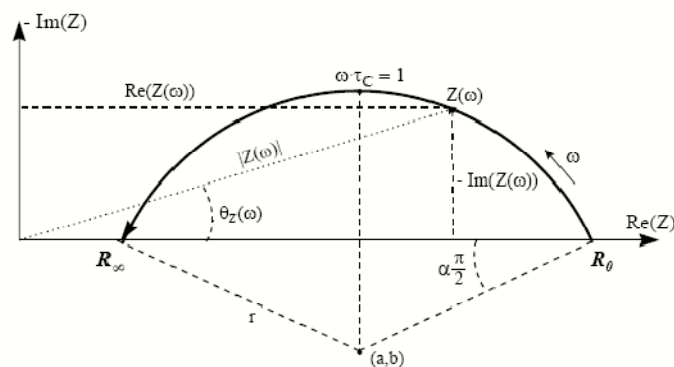


Fig. 4.38 Representació en el pla complex (diagrama de Wessel) de la impedància del model Cole-Cole.

La figura 4.39 representa diferents arcs en funció del valor de α . Per un valor de $\alpha = 0$, que correspondria al d'un condensador pur, en lloc de l'element de fase constant Z_{cpe} , es veu com el centre de la circumferència cau sobre l'eix real, mentre que per valors majors d'alfa el centre s'endinsa més cap al quadrant inferior.

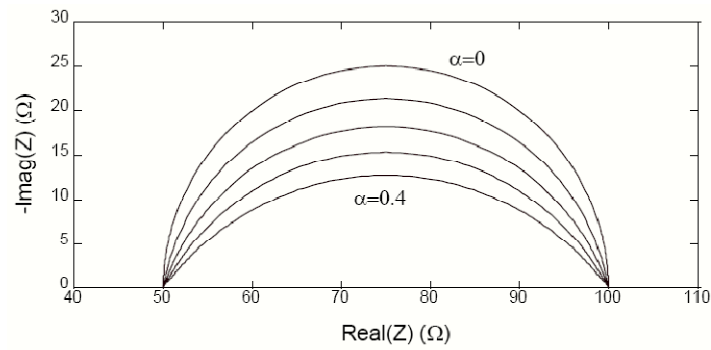


Fig. 4.39 Representació en el pla complex de la variació de l'arc en funció de α .

El codi sencer que implementa l'ajust al model Cole-Cole està situat a l'annex 8.5. Per més informació sobre el tema de les relaxacions i el model de Cole-Cole es poden consultar les referències [2] i [3].

5. MESURES

Aquest capítol resumeix les mesures fetes per validar el correcte funcionament del sistema dissenyat. Està format per dos parts: una de mesures de validació, a on es fan mesures amb components passius com resistències i condensadors; i una part de mesures d'aplicació amb el biosensor per a la detecció de bacteris i amb un sensor de glucosa.

5.1. Mesures de Validació

Es vol caracteritzar el sistema inicialment per veure que funciona correctament en els marges de treball pels que està dissenyat. Per això es realitzen dos tipus de mesures: caracterització del sistema amb mesura de resistències, a on es fan mesures de diferents valors, per determinar la linealitat i el soroll; caracterització per xarxes RC per veure com respon el sistema a mesures de relaxació. Totes les mesures s'han realitzat amb una calibració prèvia utilitzant una resistència de 10 k Ω de pel·lícula metàl·lica de l'1 % de tolerància.

Com que el circuit en si, permet diferents configuracions en funció de si es vol aplicar una polarització al biosensor, es realitzarà la caracterització de les dues configuracions possibles. La primera configuració consisteix en el circuit més simple a on no s'aplica cap tipus de polarització i, per tant, s'evita una etapa d'acondicionament amb AO que permet eliminar aquesta continua. La segona configuració permet aplicar una polarització al biosensor, aquesta tensió de polarització s'ha d'eliminar per les raons explicades al capítol de disseny, i això fa que necessiti d'un bloc afegit que introduirà soroll al sistema.

5.1.1 Resistències

5.1.1.1. Mesures de Diferents Valors

La primera prova ha estat fer mesures de diferents valors de resistències, entre 1 k Ω i 10 k Ω , en tot el rang de freqüències. La figura 5.1 mostra els resultats.

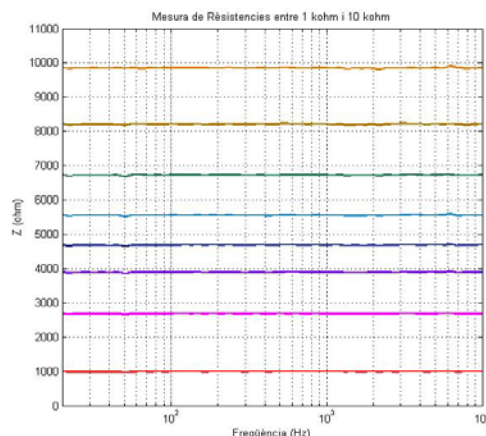


Fig. 5.1 Mesures de resistències entre 1 kΩ i 10 kΩ per la primera configuració.

Els valors mesurats són de resistències comercials, s'han mesurat 8 valors: 1 kΩ, 2k7 Ω, 3k9 Ω, 4k7 Ω, 5k6 Ω, 6k8 Ω, 8k2 Ω i 10 kΩ.

A la figura es veu que com més alt és el valor de resistència mesurat més interfereix el soroll, això es degut a que el corrent mesurat cada cop és menor, a més el guany equivalent de l'etapa de restauració cada cop es menor també, ja que el guany més elevat es per la resistència d' 1 kΩ.

Per veure el valor màxim fins on és capaç de mesurar el sistema es van fer mesures fins a valors de 100 kΩ, figura 5.2. Per el major valor de resistència es mesura un corrent de 150 nA, que comença a ser un valor molt petit, i necessita un disseny més acurat per evitar el soroll. S'utilitza la mateixa configuració de circuit que per al rang de valors anterior. Els valors mesurats són els mateixos que abans, multiplicats per un factor de 10.

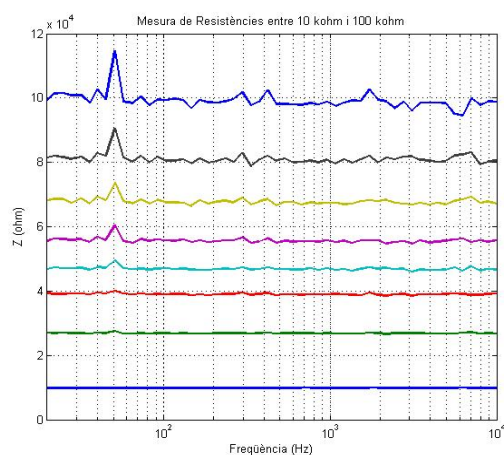
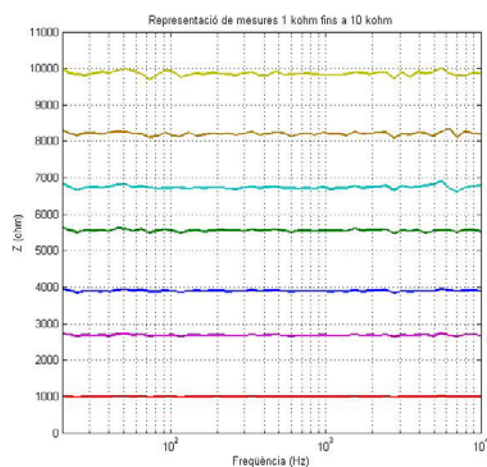


Fig. 5.2 Mesura de resistències entre 10 kΩ i 100 kΩ per la primera configuració.

Es veu de la figura que per valors majors de 27 k Ω comença ha haver-hi una influència del soroll més elevat, i la mesura tindrà més dispersió, tenint en compte que no es realitza cap tipus de promitjat. El pic que apareix a baixa freqüència és degut a la xarxa elèctrica, corresponent a una freqüència de 50 Hz.

Per una altra banda s'han realitzat les mateixes mesures però per la configuració amb possibilitat de polaritzar el sensor. La figura 5.3 mostra les mesures per valors entre 1 k Ω i 10 k Ω , i la figura 5.4 per valors entre 10 k Ω i 100 k Ω .



Taula 5.3 Mesures de resistències entre 1 k Ω i 10 k Ω per la segona configuració.

Es veu de la figura com apareix més soroll en aquest cas a mesura que s'augmenta el valor de resistència. Que es veu més clar pel rang alt de resistències.

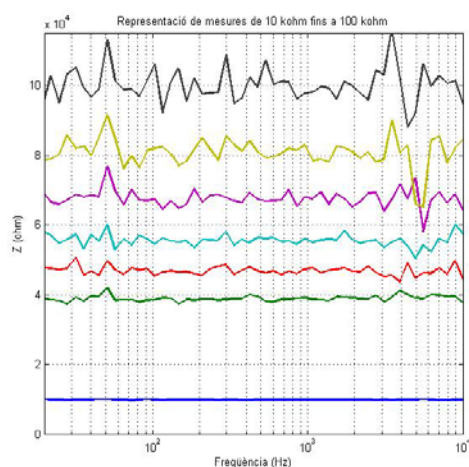


Fig. 5.4 Mesura de resistències entre 10 k Ω i 100 k Ω per la segona configuració.

5.1.1.2. Mesures de Linealitat

A les mesures de linealitat s'han utilitzat les mesures fetes a l'apartat anterior. L'experiment consisteix en determinar la linealitat del sistema, per fer-ho es fa una representació del valor teòric en front del estimat per diferents freqüències. Aquesta representació ens permet detectar errors sistemàtics, de zero i de sensibilitat del sistema, que poden ser corregits.

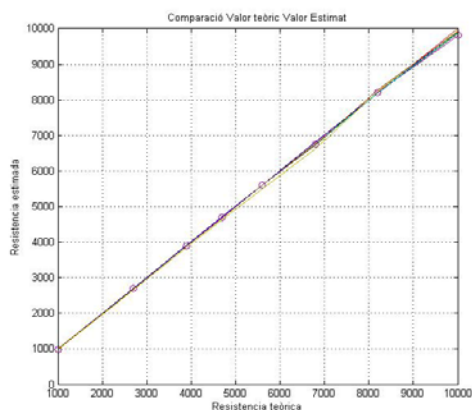


Fig. 5.5 Mesures de linealitat per la primera configuració.

A la figura 5.5 es pot veure com el sistema és pràcticament lineal, ja que totes les gràfiques estan per sobre o molt a prop de la línia recta, que seria la representació dels valors teòrics. Encara que per a valors de resistència propers als 10 k Ω es veu una mica de variació.

La figura 5.6 mostra l'error de linealitat per les diferents freqüències. En aquest cas és representa el valor absolut de la resta entre el valor teòric i el valor real. Així es veu millor l'error que en la representació anterior.

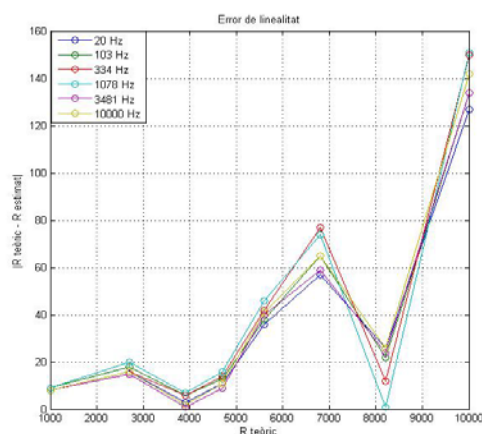


Fig. 5.6 Error de linealitat per la primera configuració.

Les dos figures següents mostren les mesures fetes per la segona configuració del sistema.

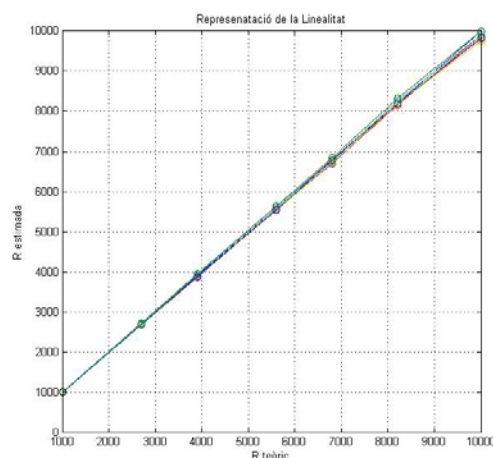


Fig. 5.7 Mesures de linealitat per la segona configuració.

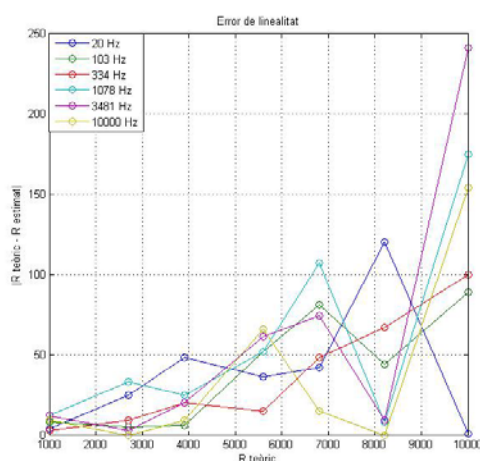


Fig. 5.8 Error de linealitat per la segona configuració.

Per aquesta configuració es veu un augment en l'error de linealitat respecte l'anterior.

5.1.1.3. Mesures de Soroll

La teoria d'errors ens diu que, un cop corregits els errors sistemàtics, si tenim un nombre elevat de mostres amb errors aleatoris, el valor correcte de la magnitud mesurada coincideix amb la mitjana. Si el nombre de mostres és elevat i segueix una llei de distribució normal (Gauss-Laplace) el marge de confiança d'aquesta mitjana serà conegut. Llavors el valor mitjà tindrà la màxima probabilitat.

En una mesura existeix una incertesa degut a errors que són aleatoris. Per tant, la incertesa en la mesura determina el marge de valors que és probable que incloguin el valor correcte, i el nivell de confiança que se li pot assignar a aquest marge. Els paràmetres que caracteritzen una llei de distribució normal són: la mitjana \bar{x} , que serà el valor de la magnitud; i la desviació tipus σ , que representa la dispersió de la població.

Per calcular aquests valors s'utilitzen estimadors de mitjana i variància.

$$\hat{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$
$$s^2(\hat{x}) = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \hat{x})^2}{n - 1}$$

De forma que la representació de les dades mesurades, si agafem n mostres per cada configuració, serà:

$$\hat{x} \pm k\sigma$$
$$\sigma = \frac{s(\hat{x})}{\sqrt{n}}$$

A on k és el factor de cobertura, que juntament amb σ , representa l'interval de confiança.

El fet de capturar n mostres ens permet reduir la dispersió deguda al soroll, de forma que la representació de l'interval de confiança queda com l'equació

$$\hat{x} \pm k \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Llavors, es pot dir que, fent la mitjana de les mostres d'un conjunt de mesures, reduïm el soroll, i ens apropem cada cop més al valor real. El paràmetre k es determina assumint un determinat factor de risc i assumint una distribució gaussiana.

L'experiment realitzat consistirà en la determinació dels paràmetres de la incertesa de les mesures per tal de caracteritzar la resolució del sistema de mesura. S'utilitzarà una estimació de la incertesa a partir de mètodes estadístics d'observacions independents sota les mateixes condicions.

El mètode utilitzat per calcular els paràmetres de mitjana i variància s'explica amb un exemple per una de les freqüències i un valor de resistència. Després es mostrarà una taula amb tots els resultats. La idea es fer una captura de 200 mostres, per tal de calcular bones estimacions, de diferents valors de resistència a diferents freqüències. S'han fet captures per valors de resistència de 1 kΩ, 4.7 kΩ i 10 kΩ, i per freqüències de 20 Hz, 500 Hz, 1000 Hz, 5000 Hz i 10000 Hz. Les mesures es consideren sense biaix, ja que es realitza una calibració per cada freqüència, com es pot veure a les mesures de linealitat.

El primer pas fet consisteix a eliminar possibles lectures aberrants utilitzant el test de Grubb, aquest pressuposa que totes les mostres segueixen un distribució normal, excepte les aberrants. Per tal de fer tots els càlculs s'ha implementat un script amb Matlab que realitza totes les operacions necessàries, es pot veure als annexos.

Per fer el test de Grubb primer es calcula la mitjana i la variància per les dades mesurades. Llavors el valor aberrant serà aquell que s'allunyi més de la mitjana, per això es calcula un índex estadístic G .

$$G = \frac{\max_i |x_i - \hat{x}|}{s(x)}$$

Aquest índex es compara amb el valor crític de la distribució t d'Student, per $n-2$ graus de llibertat i una probabilitat del 99%, llavors si es dona aquesta desigualtat

$$G < \frac{(n-1)}{\sqrt{n}} \sqrt{\frac{t_{(n-2,p)}^2}{n-2 + t_{(n-2,p)}^2}}$$

direm que la lectura és aberrant respecte les altres.

Un cop tretes les lectures aberrants, es passa a fer una representació de l' histograma de les mostres capturades, s'utilitza la funció de Matlab *histfit()*, que mostra l' histograma de les mesures i a sobre un ajust a la corba de distribució normal. D'aquesta forma detectarem de forma qualitativa, si segueixen una distribució normal, i per tant, aplicar el càlcul de mitjana i variància. Per l'exemple es mostra l'histograma per una valor d'impedància de 4.7 kΩ mesurat a 20 Hz, figura 5.9.

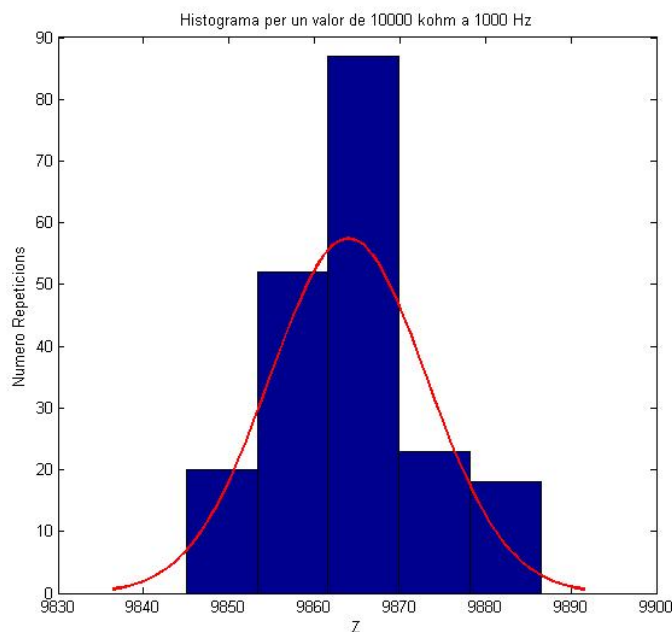


Fig. 5.9 Histograma per una mesura de resistència de 4.7 kΩ a una freqüència de 20 Hz.

Com es veu al dibuix es pot acceptar una distribució normal de les dades i per tant s'acceptaran els valors mesurat de mitjana i variància. Per calcular els valors s'han utilitzat els estimadors comentats abans, per tant

$$4685 \pm k1.3 \Omega$$

Que promitjant per n mostres quedaria

$$4685 \pm k0.09 \Omega$$

Volem un factor de cobertura del 99%, per tant utilitzarem un valor de $k = 2.6$, quedant l'expressió anterior com

$$4685 \pm 3.3 \Omega$$

S'han fet dos mesures de soroll per les dues configuracions possibles del circuit, una per el circuit que treballa sense possibilitat de polaritzar, i unes altres amb possibilitat d'aplicar una polarització i, per tant, afegint l'etapa d'eliminació de la continua de polarització.

La taula 5.1 mostra els valors de mitjana i variància obtinguts per les diferents freqüències i valors de resistència, seguint el procediment explicat per les mesures de la primera configuració.

Z \ F	20 Hz	500 Hz	1000 Hz	5000 Hz	10000 Hz
1000 Ω^4	990 \pm 0.2	990 \pm 0.3	992 \pm 0.3	991 \pm 0.2	992 \pm 0.2
4700 Ω	4685 \pm 3.3	4689 \pm 4.1	4692 \pm 5.4	4700 \pm 7.2	4686 \pm 4.3
10000 Ω	9856 \pm 14	9865 \pm 13.7	9864 \pm 23.9	9882 \pm 26.3	9854 \pm 17.3

Taula 5.1 Taula de mitjanes i variàncies per les mesures de soroll realitzades amb el circuit senzill.

La següent taula mostra l'error en tant per cent.

Z \ F	20 Hz	500 Hz	1000 Hz	5000 Hz	10000 Hz
1000 Ω	990 \pm 0.02%	990 \pm 0.03%	992 \pm 0.03%	991 \pm 0.02%	992 \pm 0.02%
4700 Ω	4685 \pm 0.07%	4689 \pm 0.08%	4692 \pm 0.11%	4700 \pm 0.15%	4686 \pm 0.09%
10000 Ω	9856 \pm 0.14%	9865 \pm 0.13%	9864 \pm 0.24%	9882 \pm 0.26%	9854 \pm 0.17%

Taula 5.2 Taula de les mesures de soroll en % pel circuit senzill.

Per la segona configuració es mostren les dades obtingudes a la taula 5.3 i 5.4. En aquesta configuració, es veu un increment de la dispersió de les dades major que per el cas en que no s'utilitza el circuit d'eliminació de continua. Es pot veure també de les dades que per una freqüència de 5000 Hz apareixen valors molt dispersos, es dedueix, juntament amb les gràfiques de mesura de resistències, que és degut a la resposta de l'etapa d'eliminació de continua.

Z \ F	20 Hz	500 Hz	1000 Hz	5000 Hz	10000 Hz
1000 Ω^5	987 \pm 1.5	990 \pm 1.3	993 \pm 1	986 \pm 3.4	1000 \pm 1.3
5600 Ω	5536 \pm 39.2	5533 \pm 22.9	5569 \pm 18.5	5531 \pm 100.2	5604 \pm 36.4
10000 Ω	9817 \pm 102.1	9865 \pm 74.9	9868 \pm 54.1	9794 \pm 309.4	9935 \pm 117.8

Taula 5.3 Taula de mitjana i variància per les mesures de soroll del circuit amb supressor de DC.

⁴ Per aquest cas no es del tot correcte acceptar la hipòtesi a totes les freqüències que sempre segueixi una distribució normal, es pot comprovar en les figures de l'annex 8.6.

⁵ Per aquest cas no es del tot correcte acceptar la hipòtesi a totes les freqüències que sempre segueixi una distribució normal, es pot comprovar en les figures de l'annex 8.6.

Z \ F	20 Hz	500 Hz	1000 Hz	5000 Hz	10000 Hz
1000 Ω	987 \pm 0.15%	990 \pm 0.13	993 \pm 0.10%	986 \pm 0.34%	1000 \pm 0.13%
5600 Ω	5536 \pm 0.71%	5533 \pm 0.41%	5569 \pm 0.33%	5531 \pm 1.82%	5604 \pm 0.64%
10000 Ω	9817 \pm 1.04%	9865 \pm 0.75%	9868 \pm 0.54%	9794 \pm 3.15%	9935 \pm 1.17%

Taula 5.4 Taula de les mesures de soroll en % amb el circuit supressor de DC.

5.1.2. Xarxes RC

Aquest apartat pretén demostrar que el sistema permet realitzar mesures de relaxacions, ja que el biosensor tindrà una resposta d'aquest estil, encara que més complexa.

5.1.2.1. Xarxa 1R - 1C

Primer s'ha fet una mesura d'una xarxa amb dos components. La resposta d'aquesta xarxa és la vista en el capítol 3, a l'apartat de modelització. La figura 5.10 mostra la resposta d'una xarxa RC sèrie amb valors de $R = 33 \text{ k}\Omega$ i $C = 1 \text{ nF}$.

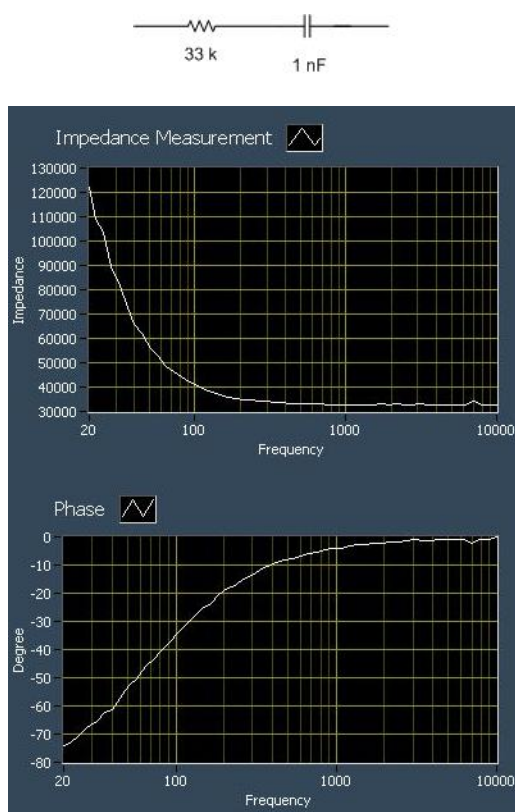


Fig. 5.10 Representació del diagrama de Bode de la resposta a una xarxa RC sèrie.

La gràfica fa la representació del mòdul i la fase. Per baixes freqüències apareix un valor d'impedància elevat i una fase negativa que tendeix als 90° , degut a la influència del condensador. A mesura que augmenta la freqüència la impedància del condensador es fa més petita i la corba tendeix al valor de la resistència sèrie amb una fase de 0° .

5.1.2.1. Xarxa $R||C - R$

Aquest tipus de xarxa és permet una representació en el pla complex, similars a la de les relaxacions del biosensor. La primera mesura representa el diagrama de Bode per una xarxa 2R-C com la de la figura.

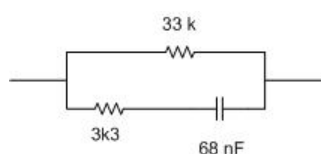


Fig. 5.11 Esquema de xarxa $R||C - R$.

La figura 5.12 mostra la resposta en un diagrama de Bode. A baixes freqüències el condensador es pot considerar com un circuit obert, i per tant, només apareix la influència de la resistència de $33\text{ k}\Omega$. En canvi a mesura que s'augmenta la freqüència el condensador va mostrant la seva resposta, fins que a altes freqüències es comporta com un curtcircuit apareixen la influència de les resistències en paral·lel, $3\text{ k}\Omega$. La f_c calculada és de 71.94 Hz .

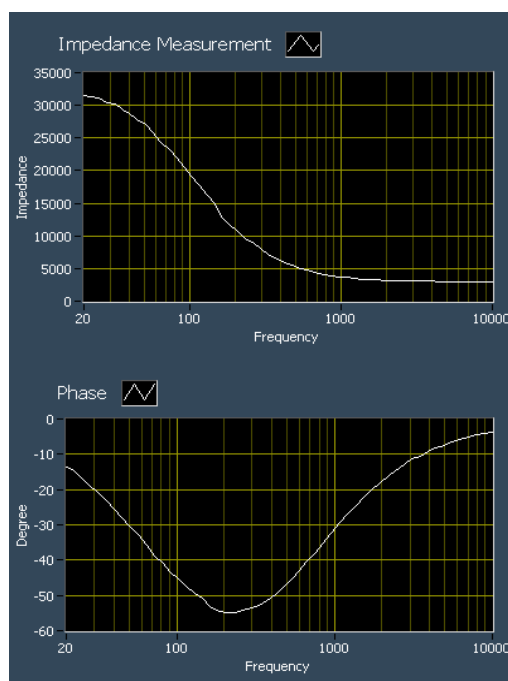


Fig. 5.12 Diagrama de Bode d'una resposta $R||C - R$.

La figura 5.13 mostra la representació complexa de la resposta, a més de l'ajust al model utilitzat en el software de control. Es pot veure com els valors de r_o i r_i són pròxims als valors comentats.

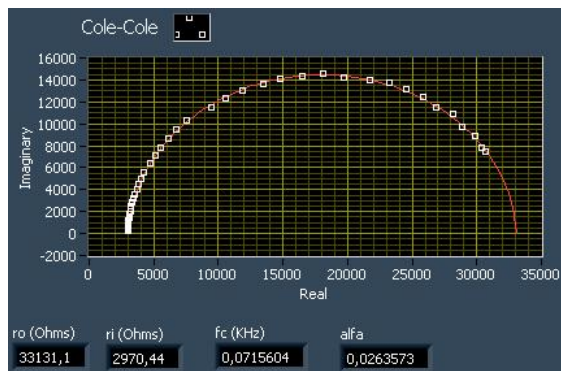


Fig. 5.13 Representació complexa de la xarxa $R||C-R$.

5.2 Mesures d'Aplicació

Un cop validat el correcte funcionament del sistema pels rangs de freqüència i impedància establerts utilitzant components passius, passem a realitzar una sèrie de mesures que permetran comprovar el correcte funcionament en situacions reals amb biosensors.

Aquest apartat està format per dos punts: al primer punt es fan mesures amb el biosensor per detecció de bacteris patògens en carn de vaca dissenyat pel CNM. D'aquesta forma es comprovarà el correcte funcionament del disseny amb el biosensor pel qual a estat dissenyat. En el segon punt es realitzen mesures amb biosensors comercials. El propòsit es determinar el funcionament del sistema de forma global, utilitzant altres tipus de biosensors.

5.2.1 Mesures amb el Biosensor

El disseny electrònic està implementat per treballar amb un tipus de biosensor concret, per tant, les mesures més adients per validar el disseny, es realitzar-les utilitzant aquest biosensor. Com s'ha explicat al capítol 3, partim del disseny d'un immunosensor de bacteries patògenes en carn de vaca dissenyat pel CNM.

Per tal de fer les mesures ens hem desplaçat al CSIC, que són els responsables de caracteritzar el disseny del biosensor. Al centre estan equipats amb un potenciostat per realitzar les mesures amb la capacitat afegida de mesurar espectres d'impedàncies, el qual utilitzarem com a referència per contrastar les mesures fetes amb el nostre circuit. El model de l'equip és un Parstat 2263 de Princeton Applied Research amb les següent característiques:

Tensió de sortida màxima: ± 10 V

Corrent màxim: ± 200 mA

Ample de Banda: 10 μ Hz – 1 MHz

Tenim dos biosensors per fer les mesures. Un primer biosensor funcionalitzat, es a dir, amb l'anticòs fixat sobre els elèctrodes, i un de nou sense funcionalitzar amb els elèctrodes formats per or.

El primer pas ha estat realitzar una calibració dels dos aparells amb una resistència de pel·lícula metàl·lica de 10 k Ω . A la figura 5.14 es veu una mesura de la resistència amb els dos aparells. El pic que apareix en la gràfica verda es degut a interferències de xarxa.

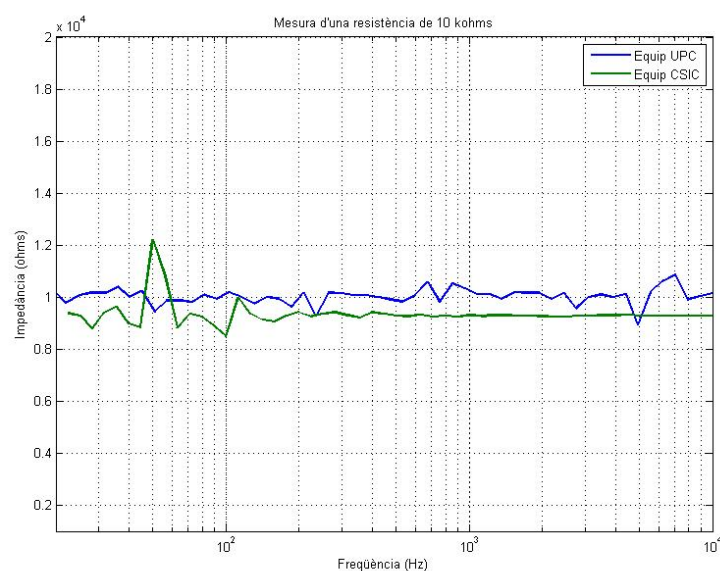


Fig. 5.14 Mesura d'una resistència de 10 k Ω .

Seguidament es fan mesures amb els biosensors a l'aire, encara que pel cas no ens es necessari, és una mesura típica per tenir una referència de la variació produïda entre el biosensor sense analit i amb analit. Degut a que el biosensor presenta una impedància molt elevada en les condicions a l'aire, el nostre sistema està fora del rang de mesura i no aporta gaire informació, per tant, només s'han afegit les gràfiques de les mesures amb l'equip comercial. A la gràfica es veu com la resposta es la típica d'un condensador.

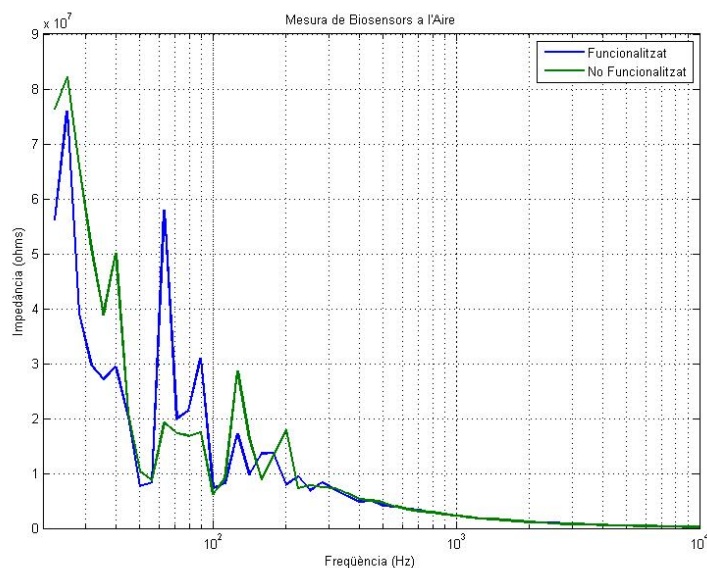


Fig. 5.15 Mesura dels biosensors a l'aire.

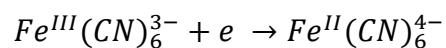
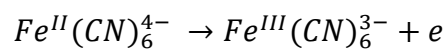
Per la caracterització de transductors electroquímics s'utilitza una dissolució Fe(II)/Fe(III) que permet el moviment de càrrega sobre el transductor, aquesta dissolució és una solució aquosa en:

KNO_3 (Nitrat Potàssic) \rightarrow 0.1 M

$\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}$ (Ferrocianur) \rightarrow 10 mM

$\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6^{3-}$ (Ferricianur) \rightarrow 10 mM

A l'aplicar un potencial als elèctrodes en contacte amb la dissolució es produeix la reacció de reducció o oxidació provocant l'alliberament o captura d'un electró, i així, la producció d'un moviment de càrrega, que dona lloc a un corrent elèctric. La reacció redox és:



Un cop es té la dissolució, s'han submergit el biosensors en aquesta per tal que estigui en contacte amb els elèctrodes. A les mesures es veu com la resposta és una relaxació típica per aquest tipus de dispositius, de forma que es pot realitzar un ajust al model Cole-Cole per extreure conclusions i el model del biosensor.

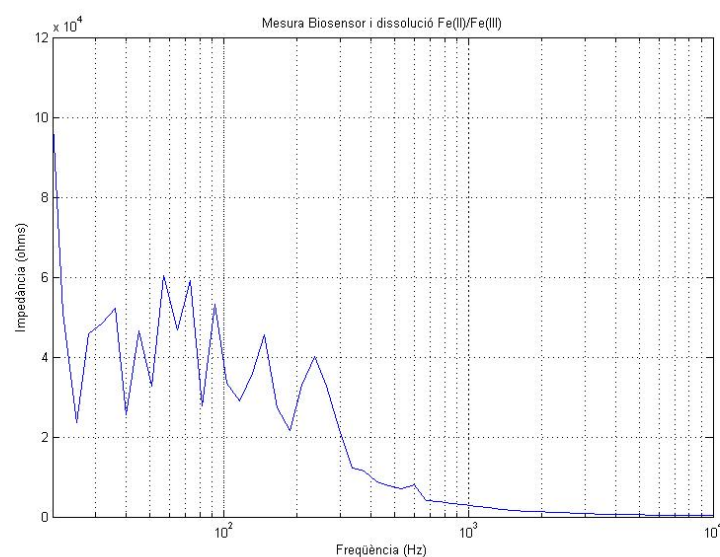


Fig. 5.16 Mesura del Biosensor submergit en dissolució Fe(II)/Fe(III) amb equip propi

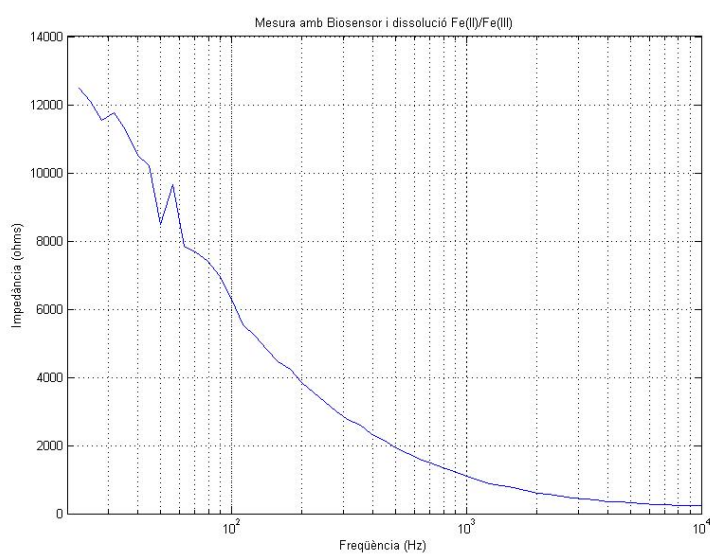


Fig. 5.17 Mesura Biosensor submergit en dissolució Fe(II)/Fe(III) amb Parstat 2263

Les mesures realitzades amb el Parstat 2263 presenten menys soroll que les realitzades amb el nostre equip. A més es veu com el rang de valors d'impedància mesurats pel Parstat són més baixos que pel nostre, amb el Parstat es té un rang entre $300\ \Omega$ i $13\ \text{k}\Omega$, i amb el nostre equip estem en un rang comprés entre $400\ \Omega$ i $40\ \text{k}\Omega$. De les mesures anteriors, i amb altres biosensors, s'ha pogut comprovar el correcte funcionament del sistema, en canvi a l'hora de connectar el biosensor de treball apareix algun efecte no identificat, que surt fora del projecte per qüestions temporals, i quedarà com a treball futur d'estudi.

Una de les causes possibles d'aquest soroll és l'efecte de difusió de les càrregues a baixes freqüències. Unes altres possibles fonts d'interferències poden ser provocades per la xarxa i el cable de connexió USB, que al principi de l'experiment interferia amb les mesures fetes amb l'equip comercial, i que es va solucionar allunyant els cables d'alimentació i comunicació USB dels de l'equip de mesura. Pel nostre cas era més difícil, ja que els cables havien d'estar allí per poder-ho utilitzar. Una solució seria tancar la placa en una capsa metàl·lica connectada a massa, per qüestions temporals no s'ha pogut dur a terme. Per una altra banda tenim que el circuit dissenyat estava implementat per treballar fins un màxim de $10\ \text{k}\Omega$, i que per sobre d'aquests valors el corrent mesurat disminueix significativament degut baix nivell del senyal d'excitació.

Per disminuir el soroll del nostre equip seria recomanable realitzar un promitjat de les dades a baixes freqüències, capturant diverses vegades dades de cada punt de freqüència mesurat. Per saber el nombre de captures necessàries, o tenir una aproximació, i fer el promitjat per reduir el soroll es realitzen N captures seguides, amb el biosensor submergit a la dissolució, i es fa un estudi estadístic de les dades.

Pel tractament estadístic de les dades s'han capturat 10 mesures de 20 punts per dècada en un ample de banda entre $20\ \text{Hz}$ i $10\ \text{kHz}$, per tant, tindrem 54 punts en cada captura, format per la part real i imaginària de la impedància i la freqüència de mesura.

Un cop tenim les captures s'han calculat la mitjana i la desviació de la part real i imaginària de les 10 mesures per cada punt de freqüència. Les figures 5.18 i 5.19 mostren la representació de la mitjana i la desviació en cada punt de freqüència mesurat. S'ha fet una representació logarítmica de les dades, ja que permetia una millor comprensió dels gràfics. La línia contínua és un filtrat de mitjana mòbil de 10 punts de doble passada en el domini de la freqüència.

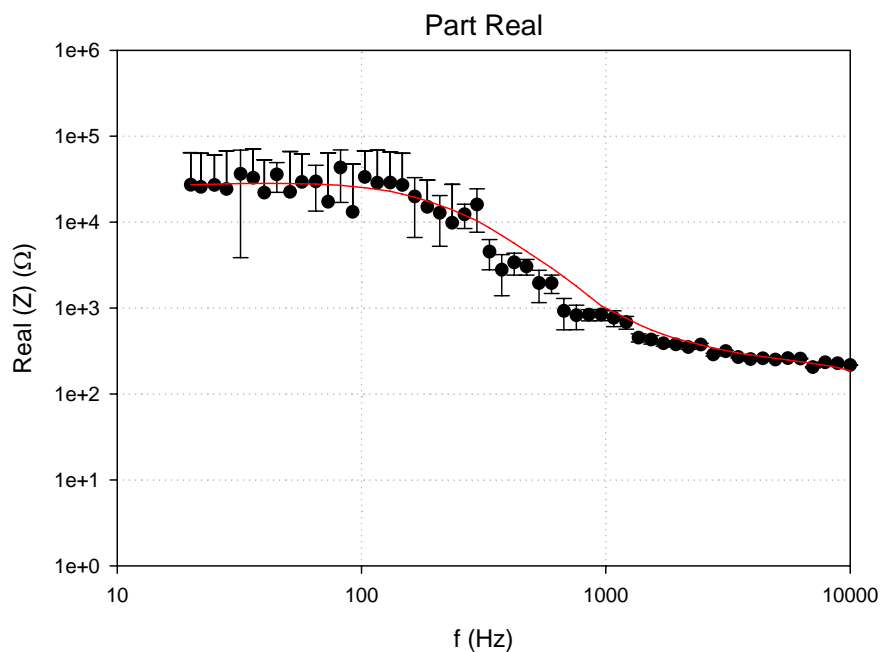


Fig. 5.18 Càlcul de la mitjana i la desviació de la part Real.

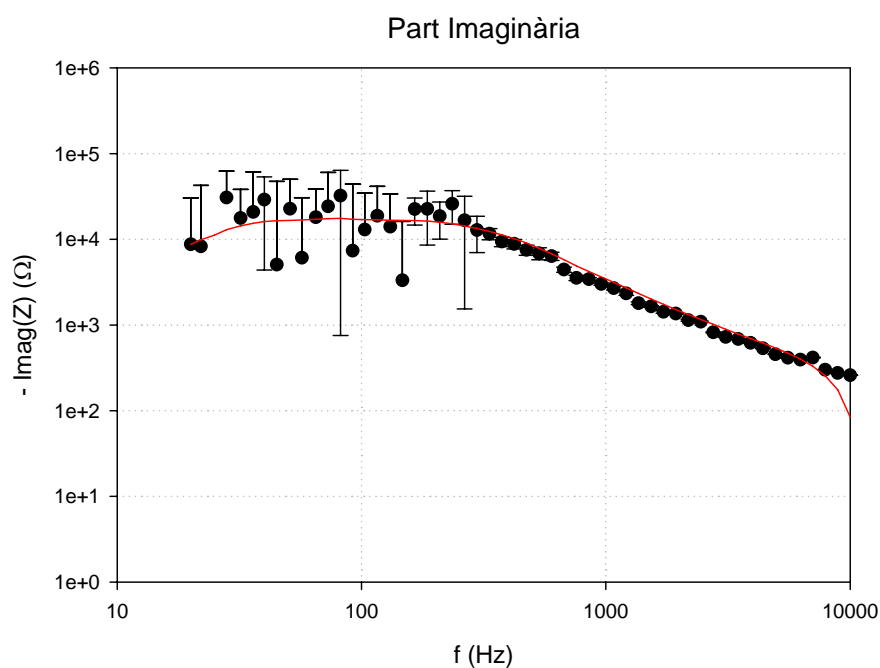


Fig. 5.19 Càlcul de la mitjana i la desviació de la part Imaginària.

A mesura que disminueix la freqüència es veu un augment en la desviació de les dades, per tant, apareix més dispersió per aquests valors. Es pot identificar que les pitjors desviacions es donen a partir d'aproximadament 200 Hz. La part real mostra una dispersió més moderada, que ens afectarà principalment en el mòdul de la impedància. En canvi a la part

imaginària la desviació és major i afectarà principalment en l'obtenció de la fase de la impedància.

Si es representa el mòdul i la fase es veu com afecta aquesta dispersió a l'hora de mostrar les dades.

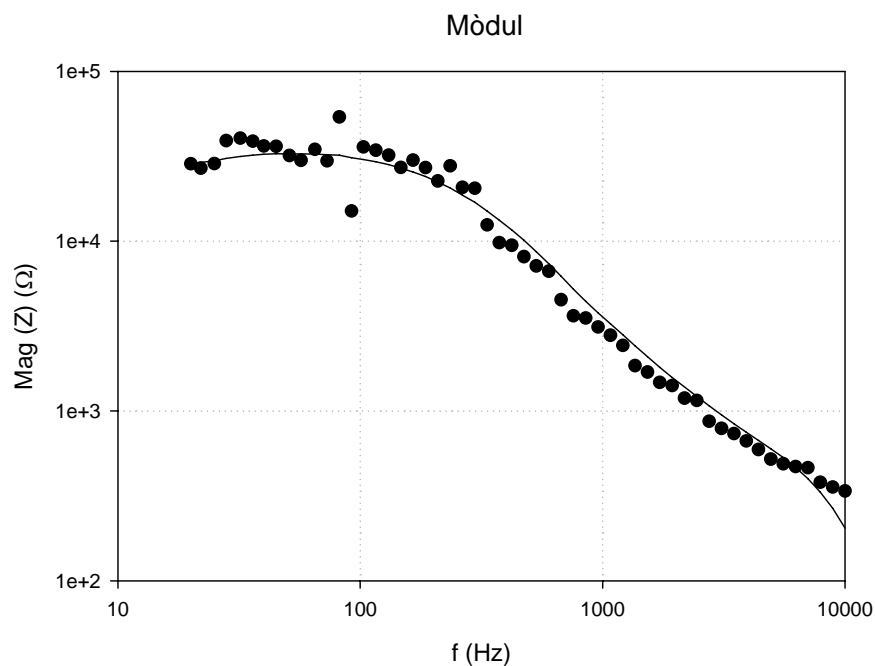


Fig. 5.20 Mòdul calculat a partir de la mitjana de les dades.

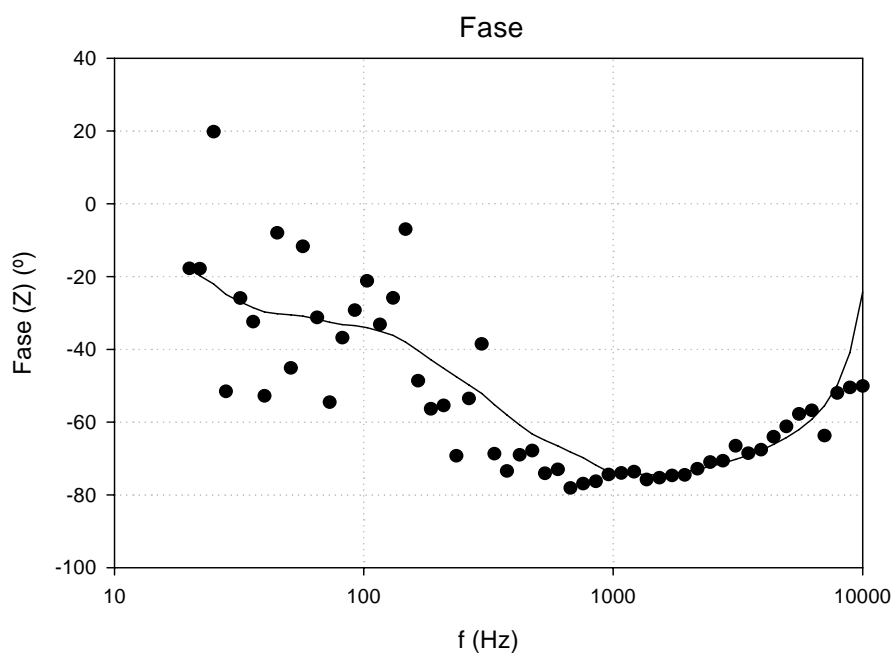


Fig. 5.21 Fase calculada a partir de la mitjana de les dades.

El mòdul presenta una millora després d'haver fet la mitjana de les dades, que com s'ha dit ve determinada principalment per la part real. En canvi a la fase, quan baixem de 200 Hz, la dispersió és major dificultant la seva interpretació a simple vista. Quan es conegui la resolució necessària per a determinar la densitat de bacteris, es podrà calcular quantes mesures s'han de promitjar.

Per una altra banda esta la representació de l'ajust a model, en aquest cas la dispersió que apareix en la part imaginària afecta en la interpretació de l'arc, i l'ajust no és gaire correcte tenint en compte aquestes dades.

Per tenir un millor ajust es descarten els punts amb més desviació, es a dir, eliminem els punts per sota de 200 Hz. La figura 5.22 mostra aquest ajust només amb els punts bons.

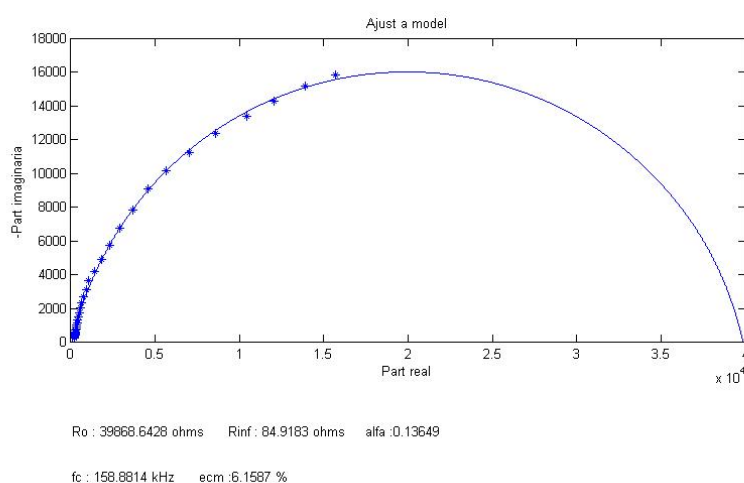


Fig. 22 Ajust a model amb els punts més òptims.

5.2.2. Mesures de Glucosa

Donat el caràcter experimental dels biosensors associats al projecte de recerca, s'han proposat també fer mesures amb biosensors comercials que es poden trobar a qualsevol farmàcia o empresa especialitzada.

Per les mesures de glucosa es van utilitzar tires reactives comercials de les que es fan servir per mesurar el nivell de glucosa en sang per als diabètics. Les tires utilitzades són les Sensor Comfort del fabricant ACCU-CHEK.

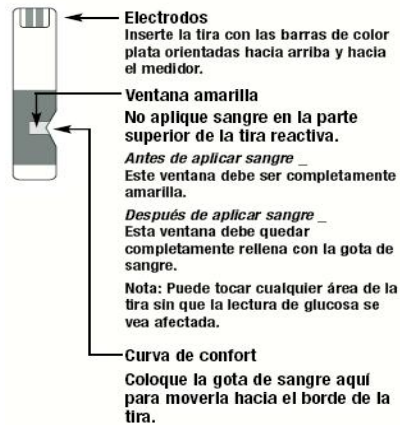


Fig. 5.11 Tira reactiva ACCU-CHECK Sensor Comfort

La tira reactiva esta formada principalment per dos elèctrodes, a través dels quals es farà la mesura, i una finestreta a on s'introduirà per capil·laritat la dissolució de glucosa amb el sèrum.

Per tal de simular el contingut de glucosa en sang es fa servir una concentració coneguda de glucosa diluïda en una solució salina (sèrum fisiològic). El rang habitual que és pot mesurar en un sistema comercial va desde 10 mg/dl fins a 600 mg/dl, per tant, es van realitzar 5 concentracions per fer el test, de 100 mg/dl, 200 mg/dl, 300 mg/dl, 400 mg/dl i 500 mg/dl.

Inicialment es va fer una concentració de 500 mg/dl, aconseguint les altres a partir d'aquesta. De forma que:

1 ml glucosa concentrada \rightarrow 500 mg glucosa

99 ml sèrum + 1ml glucosa \rightarrow 500 mg/dl

A partir d'aquesta solució s'obtenen les altres concentracions de 100 , 200, 300 i 400 mg/dl. Al no tenir un aparell alternatiu de mesura no podem saber si es detecten aquests valors correctament amb les tires reactives, però per les probes no es pretén saber quina concentració mesura exactament, sinó veure una variació de la impedància significativa.

La qüestió important és tenir unes mesures de contrast fiables per demostrar que el sistema funciona correctament. Per obtenir aquestes s'utilitzarà un analitzador d'impedàncies d'HP 4192 que ens permetrà fer un escombrat freqüencial entre 10 Hz i 10 kHz, que és el rang

de mesura del nostre disseny, i així contrastar els valors obtinguts. Per tant, s'han realitzat mesures de cada concentració amb els dos aparells, el de disseny propi i l'HP 4192. La figura 5.12 mostra les mesures d'una concentració de 100 mg/dl amb els dos instruments. Es pot veure a la gràfica com es segueix la mateixa relaxació en els dos casos i els valors d'impedància en Ω mesurats són pròxims, mesurant més soroll amb el nostre equip.

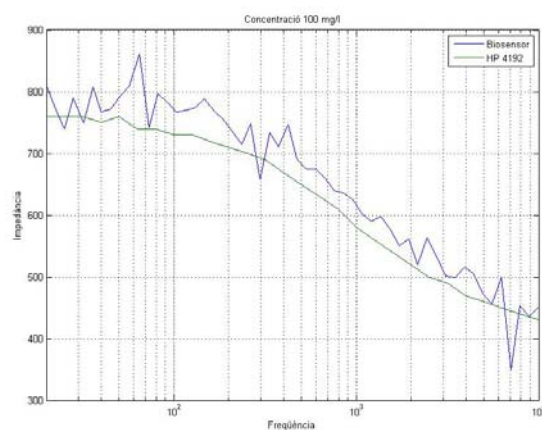


Fig. 5.12 Mesura d'una concentració de 100 mg/dl entre 20 Hz i 10 kHz.

La representació de totes les gràfiques juntes no permet extreure unes conclusions clares sobre la variació de la impedància en funció de la concentració, com es veu a la figura 5.13.

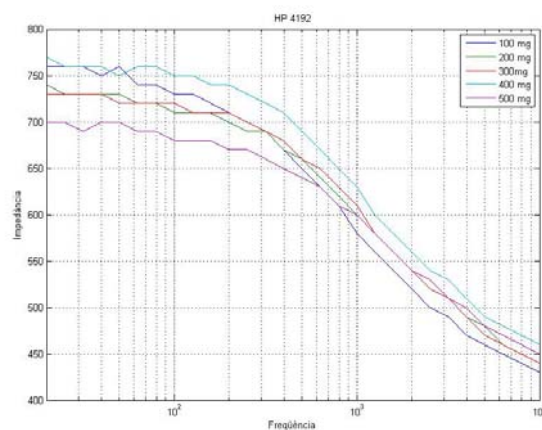


Fig. 5.13 Mesures de totes les concentracions entre 10 Hz i 10 kHz.

Per tal de veure el correcte funcionament es representen els valors de R_o , R_i , $R_o - R_i$ i R_o/R_i calculats amb l'algoritme d'ajust a la corba Cole-Cole implementada en l'aplicació de caracterització, aquestes dades aporten informació més clara de la variació de la impedància

en funció de la concentració. En el capítol 3 s'ha explicat aquest tipus de representació. Les gràfiques d'aquests paràmetres solen tenir una forma sigmoide.

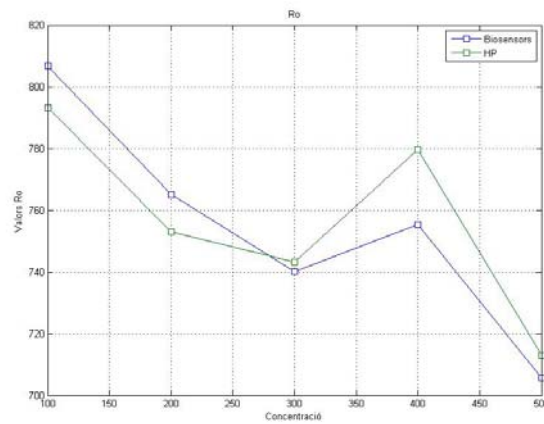


Fig. 5.14 Representació de la variació de R_o en funció de la concentració.

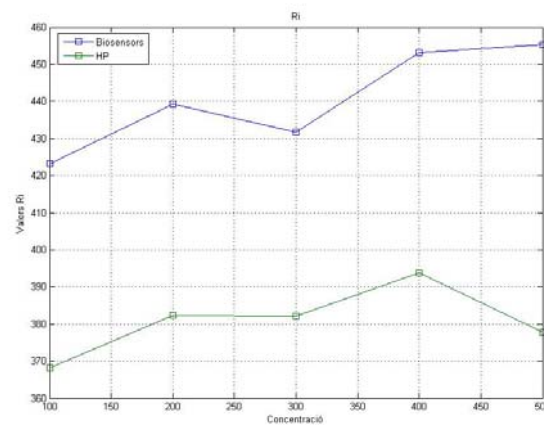


Fig. 5.15 Representació de la variació de R_i en funció de la concentració.

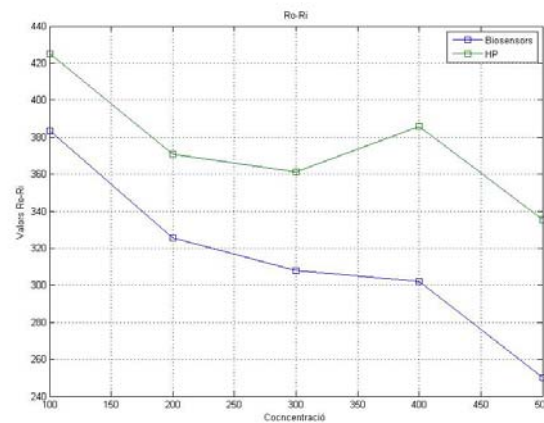


Fig. 5.16 Representació de la diferència $R_o - R_i$ en funció de la concentració.

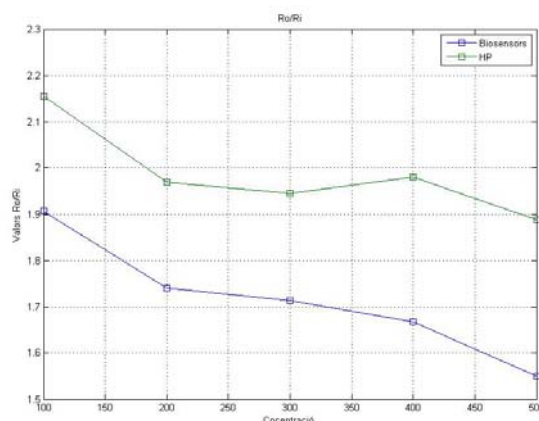


Fig. 5.17 Representació de la relació R_o/R_i en funció de la concentració.

Es veu com tots els paràmetres segueixen una variació monòtona, amb algun punt discordant, tipus sigmoide poc accentuat. El punt de la concentració de 400 mg/dl presenta alguna pertorbació, segurament deguda al procediment de mesura. A causa de la transparència de la dissolució de glucosa es feia difícil saber del cert si la gota havia estat absorbida correctament per la finestreta del biosensor. A més a més l'etapa frontal utilitzada per mesura amb el instrument d'HP no és d'estructura de potenciostat, el que pot explicar el comportament diferent respecte el nostre disseny.

Aquests paràmetres serien els directes extrets de la representació i ajust al model Cole-Cole implementats, però, del model elèctric, vist anteriorment i dibuixat a la figura 5.18, es pot extreure el valor de R_s . Aquest correspondrà a la variació de càrrega deguda a la reacció enzimàtica produïda en el biosensor i, per tant, representarà més directament la relació entre la variació d'impedància i la concentració de glucosa.

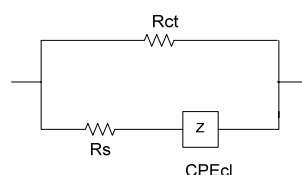


Fig. 5.18 Equivalent elèctric del biosensor.

A partir dels valors obtinguts amb l'ajust Cole-Cole R_o i R_i trobarem l'equivalència corresponent amb els valors de R_{ct} i R_s . El component de fase constant té un comportament freqüencial igual que un condensador a altes i baixes freqüències per tant:

$R_o = R_{ct}$, ja que a baixa freqüència CPE es comportarà com un circuit obert.

$R_i = R_s // R_{ct}$, ja que a alta freqüència CPE es comportarà com un curtcircuit.

La figura 5.19 mostra la representació del valor de R_s en funció de la concentració.

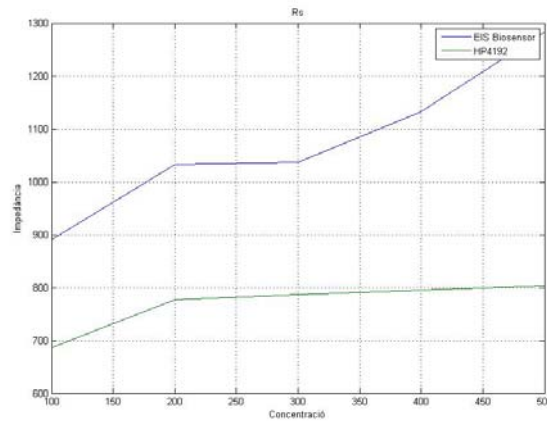


Fig. 5.19 Representació del paràmetre R_s .

Qualitativament el valor de R_s mostra l'augment de glucosa en funció de la concentració. Per tal de corregir la dispersió produïda, tant pel comportament de les tires com a la irregularitat en l'emplena't del volum del biosensor amb el mètode de mesura emprat, seria convenient fer mesures amb diverses tires a cada concentració i fer la mitjana de les dades.

6. CONCLUSIONS I PERSPECTIVES DE FUTUR

En aquest capítol es farà un resum de les principals fites globals aconseguides i quines perspectives de futur es presenten a partir del treball realitzat.

6.1. Conclusions

Aquest tipus de projecte no permet redactar unes conclusions amb el significat de la paraula i, per tant, és farà un resum de les fites aconseguides en el projecte.

- S'ha implementat un sistema d'instrumentació per mesures d'espectroscòpia d'impedància per a biosensors. El sistema permet realitzar mesures d'impedància en un rang entre 1 k Ω i centenars de k Ω , permet realitzar un escombrat espectral de baixa freqüència fins a freqüències mitges o bé realitzar mesures a una freqüència fixa.
- La opció final escollida per realitzar el disseny electrònic ha estat utilitzar el xip AD5933. Aquest xip és un sistema de mesura d'impedància integrat, que permet desde generar el senyal d'excitació fins a realitzar la mesura d'impedància i digitalitzar-la per obtenir el valor real i imaginari de la mesura.
- Degut a les limitacions de l'AD5933 s'ha realitzat el disseny d'un front-end que permet superar aquestes limitacions per tal de poder fer les mesures amb un biosensor. Aquest front-end adapta el senyal d'excitació que s'injectarà al biosensor i restaura el senyal a mesurar que adquirirà el sistema de mesura d'impedància AD5933.
- S'ha implementat un sistema de control del sistema via software amb una GUI. La connexió PC-sistema es realitza mitjançant un mòdul de NI, l'USB-8451, que permet la comunicació entre un PC de sobretaula i el disseny electrònic implementat. El software de control permet la configuració i posta en marxa del sistema per tal de realitzar la mesura d'impedància.
- S'ha creat una interfície d'usuari que permet posar a punt el sistema i realitzar les mesures necessàries per tal de caracteritzar el sistema i comprovar el correcte funcionament. La interfície mostra les dades adquirides en forma de gràfiques i guarda aquestes en un arxiu de dades per poder examinar-les a posteriori.
- Finalment s'ha dut a terme mesures de caracterització i de validació obtenint resultats satisfactoris, com es pot comprovar en el capítol 5.

- El cost del sistema de mesura complet és de l'ordre dels 530 €. A l'annex 8.3 es pot veure el desglossament del pressupost del sistema de mesura.

6.2. Perspectives futures

En aquest punt s'enumeraran les tasques o perspectives de futur que aporta el projecte:

- Estudi en profunditat de la globalització del disseny electrònic per ser utilitzat en un rang més ampli de mesura d'impedàncies i freqüència sobre biosensors o d'altres aplicacions.
- Degut a que en aquest projecte es tenia poc temps es va optar en utilitzar la interfície de comunicació USB-I²C de NI. Per tant, apareix la possibilitat de realitzar el disseny d'un sistema compacte que contingui la comunicació via USB integrada en el sistema de mesura.
- Estudi per la realització d'un sistema portàtil de mesura de bioimpedàncies mitjançant l'AD5933 i la idea del front end per adaptar el sistema al dispositiu o organisme de mesura.
- Degut a l'aparició de soroll a baixes freqüències, per més informació consultar el capítol 5. Es proposa un estudi per incorporar un sistema de filtrat passa banda a cada freqüència per reduir el soroll, realitzar l'encapsulat del circuit en una caixa metàl·lica i filtrat de la xarxa per evitar interferències externes.

7. BIBLIOGRAFIA

Llibres

- [1] **Eggins, Brian.** *Biosensors: An Introduction*. England: John Wiley & Sons Ltd. 1996.
- [2] **MacDonald, J. Ross.** *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment and Application*. Second Edition. Willey-Interscience. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. 2005.
- [3] **Grimnes, Sverre; Martinsen, Orjan G.** *Bioimpedance & Bioelectricity Basics*. Second Edition. Academic Press. Great Britain: Elsevier 2008.
- [4] **Togawa, Tatsuo; Tamura, Toshiyo; Öberg, P. Ake.** *Biomedical Transducers and Instrumentation*. USA: CRC Press 1997.
- [5] **De Blasio, Birgitte F.; Wegner, Joachim.** "Impedance Spectroscopy". **Webster, John G.** *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation Vol. 4*. Second Edition. New Jersey: Wiley & Sons 2006.

Articles i Tesis

- [6] **Seoane, Fernando; Ferreira, Javier; Sanchez, Juan J.; Bragós, Ramon.** *An analog front-end enables electrical impedance spectroscopy system on-chip for biomedical applications*. *Physiol. Meas.* **29** (2008) S267-S278.
- [7] **Valera Cano, Enrique Andrés.** *Immunosensors based on Interdigitated μ -Electrodes: Application to Pesticide Detection*. MNT I DEE-UPC. Barcelona 2008.
- [8] **Gabrielli, Claude.** *Identification of electrochemical Processes by Frequency Response analysis*. Technical Report Number 004/83, **1998**, Solartron Analytical, Issue 3.
- [9] **Katz, Eugenii; Willner, Itamar.** *Probing Biomolecular Interactions at Conductive and Semiconductive Surfaces by Impedance Spectroscopy: Routes to Impedimetric Immunosensors, DNA-Sensors, and Enzyme Biosensors*. *Electroanalysis* **2003**, 15, No 11
- [10] **Daniels, Jomathan S.; Pourmand, Nader.** *Label-Free Impedance Biosensors: Opportunities and Challenges*. *Electroanalysis* 19, **2007**, No 12, 1293-1257
- [11] **Guan, Jian-Guo; Miao Yu-Qing; Zhang Qing-Jie.** *Review Impedimetric Biosensors*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 97, No. 4, 219-226, **2004**.

Documents electrònics

[12] http://www.gamry.com/App_Notes/EIS_Primer/EIS_Primer.htm

[13] <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/immethhod.html>

[14] http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC001_BIOPAT_WSF.pdf

[15] <http://www.alimentacion.enfasis.com/notas/7215-biosensores-la-industria-alimentaria>

8. ANNEXES

8.1. Esquema PSPICE

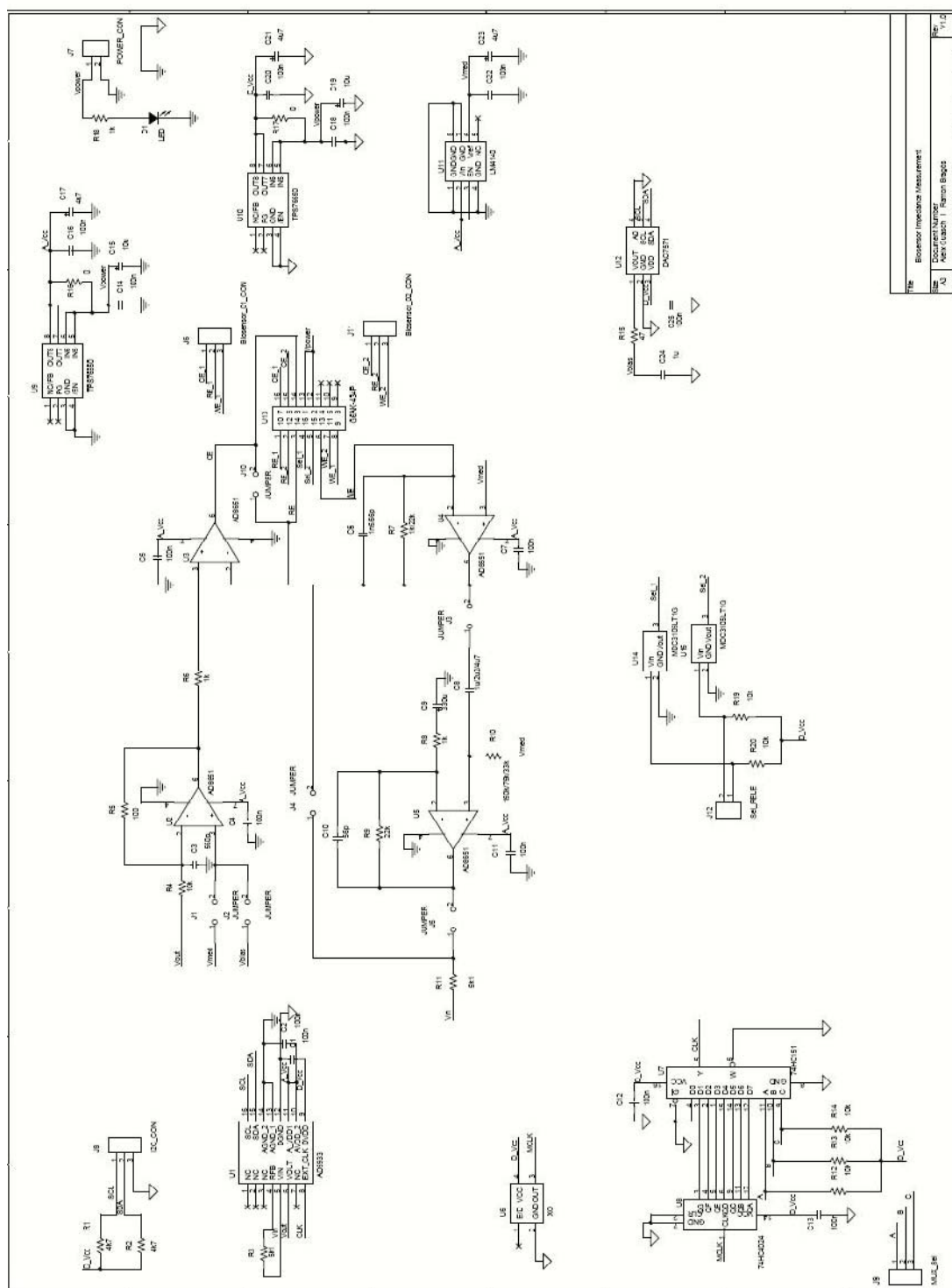


Fig. 8.1 Esquemàtic PSPICE del sistema complet

8.3. Llista de components i pressupost placa

Component	Quantitat	Codi RS	Codi Farnell	Funció	Preu €
TPS76650D	2	517-1393		Regulador LDO 5.0 V 250mA D~140mV	0,68
LM4140ACM-2.5/NOPB	1	534-3144		Referencia 2.5 V	9,11
DAC7571IDBVT	1	461-5971		DAC 12 Bits R-R	3,56
AD8651ARZ	4	496-8562		OpAmp Baix Soroll, BW 50MHZ	2,93
74HC151D	1		1201321	Multiplexor CMOS 8 Canals	0,49
74HC4024D	1		1631669	Comptador Ripple Carry 7 bits	0,81
AD5933	1			Mesurador Impedancia I2C	28,5
FSO-2LF 3.6864 MHZ	1	547-5780		Oscil·lador a 3.6864 MHz	4,28
C0805C104K4RAC7800	15	648-0957		Condensador Ceràmic 100 nF 16V 0805	0,092
TAJT475K010R	3	405-9573		Condensador Tàntal 4.7 uF 10V EIA 3528_12	0,7
T491C106K010AT	3	648-0575		Condensador Tàntal 10 uF 10V EIA 6032_15	0,26
ECEV1CA471P	1	628-4002		Condensador Electrolític 470 uF 16V	0,3
GRM31CR61A475KA01L	1	653- 0579		Condensador Ceràmic 4.7 uF 10 V 1206	0,066
TACK105M010QTA	1	648-0698		Condensador Tàntal 1uF 10V EIA 3216_18	0,135
C0805C680J5GAC7800	2	648-0828		Condensador Ceràmic 68pF	0,092
VJ0805A561JXBT	1	393-7113		Condensador Ceràmic 560pF	0,034
CRG0805F10K	4	223-0562		Resistència 10kohm 0805	0,03
CRG0805F5K6	2	223-0534		Resistència 5k6ohm 0805	0,03
CRG0805F4K7	2	223-0528		Resistència 4k7ohm 0805	0,03
CRG0805F1K0	4	223-0427		Resistència 1kohm 0805	0,03
CRG0805F33K	1	223-0629		Resistència 33kohm 0805	0,03
CRG0805F22K	2	223-0607		Resistència 22kohm 0805	0,03
CRG0805F100R	1	223-0297		Resistència 100ohm 0805	0,03
CRG0805ZR	2	223-0146		Resistència 0 ohms 0805	0,03
CRG0805F47R	1	223-0253		Resistència 47 ohms 0805	0,03
KP-2012MGC	1	466-3778		LED trans. Verd	0,49
G6AK-434	1	369-652		Relè Enclavament 5 V	11,52
MDC3105	2	464-069		Driver per Relè 5 V	0,293

Desenvolupament d'un Sistema d'Espectroscòpia d'Impedàncies per a Mesures amb Biosensors

				Total components	77,975€
Fabricació Placa	1			Total PCB	102,5€
				Total Placa amb Components	180,475€
NI USB-8451, I2C/SPI Int.				Interfície USB-I2C/SPI	350€
				Total Sistema de mesura complet	530,475€

Taula 8.1 Llista de components i pressupost per muntar la placa.

La llista de components mostra tots els components necessaris per tal de poder muntar una placa funcional segons el disseny establert. S'han escollits components existents al mercat per tal de no complicar tasques futures de reparació, en comptes de buscar components en proves, o recentment sortits al mercat.

El preu total de la fabricació és per unitat de placa prototip, engloba tant la placa de circuit imprès amb les pistes com tot el llistat de components necessaris per una sola placa. És fa evident que el preu és elevat degut a que la fabricació d'un nombre reduït de plaques de circuit imprès és costos. Per tant, la fabricació d'un nombre elevat de plaques reduiria el preu global del instrument considerablement. A més hi ha alguns components que el seu preu unitari també és força elevat en comparació de si se'n compra un lot gran, com per exemple l'AD5933, GA6K o LM4140.

Per una altra banda la interfície USB-SPI de National Instruments es pot substituir per un sistema amb μC , amb un cost inferior als 10 €. En aquest projecte s'ha utilitzat la interfície de NI per qüestions temporals, ja que permetia una aplicació més ràpida. El cost en el mercat d'un aparell que permet realitzar mesures d'espectroscòpia d'impedància per alguna aplicació amb biosensors d'aquest tipus supera els 3000 €. Per tant, tenim un sistema més econòmic que els convencionals, l'inconvenient es que és més especialitzat i no permet aplicar-ho a qualsevol biosensor.

8.4. Diagrames de LabView

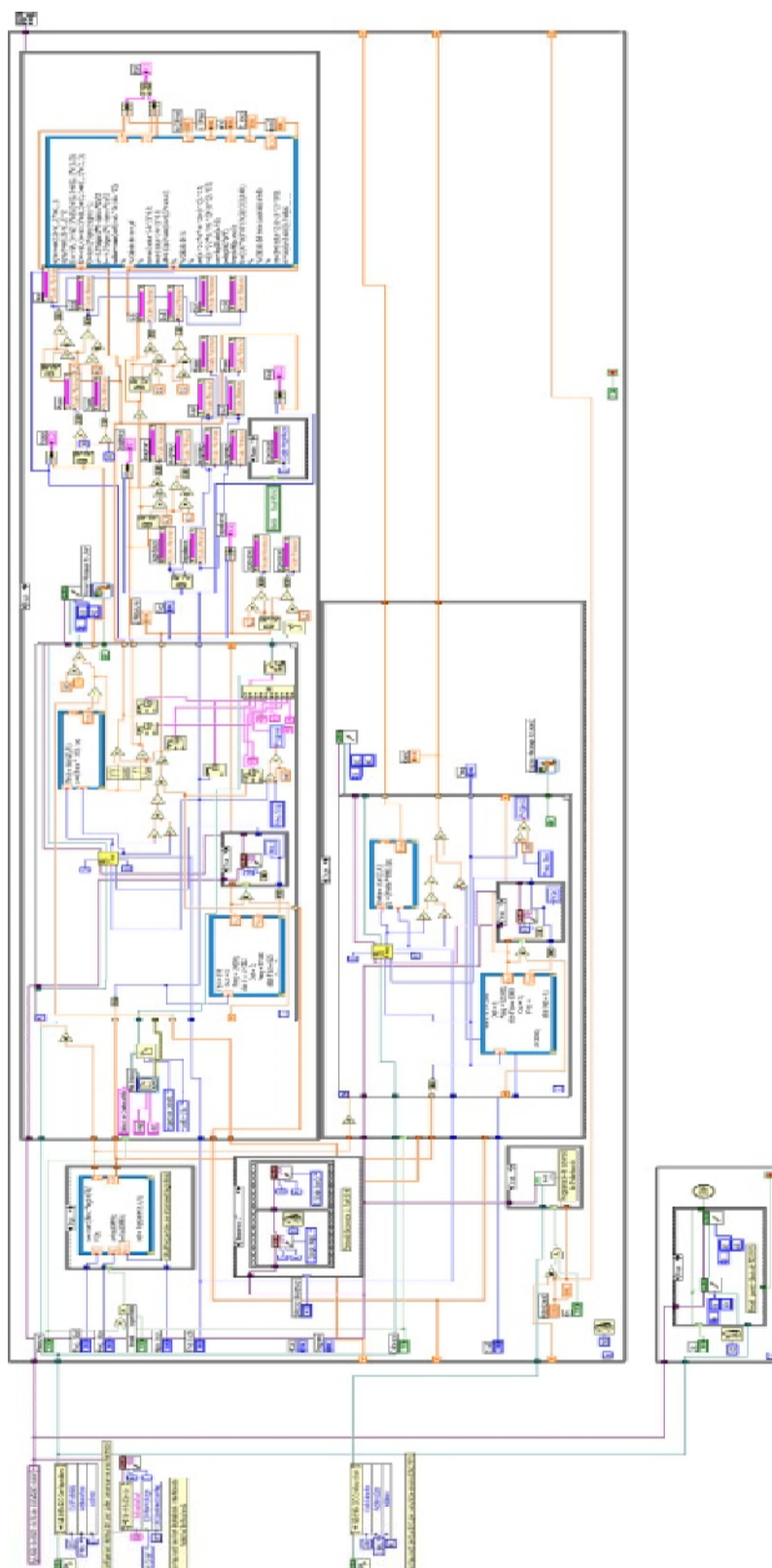


Fig. 8.5 Diagrama del sistema complet.

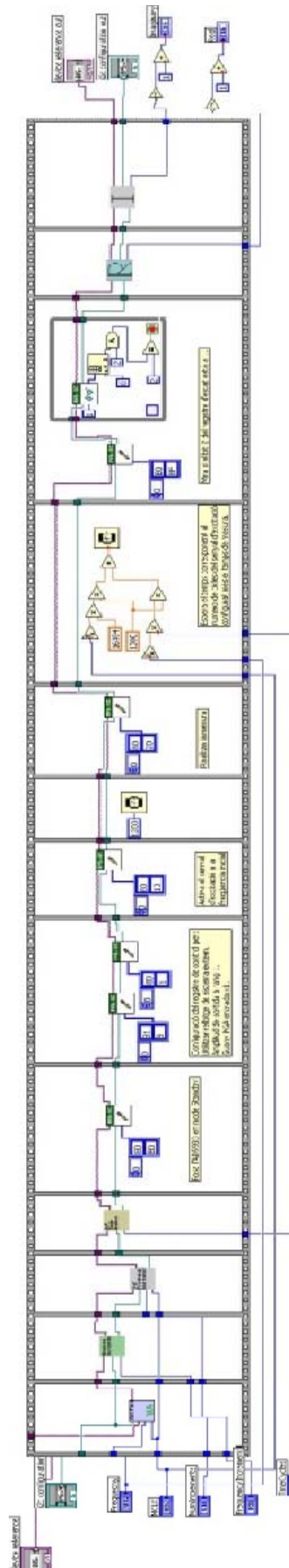


Fig. 8.6 Diagrama del bloc que fa la mesura d'una freqüència.

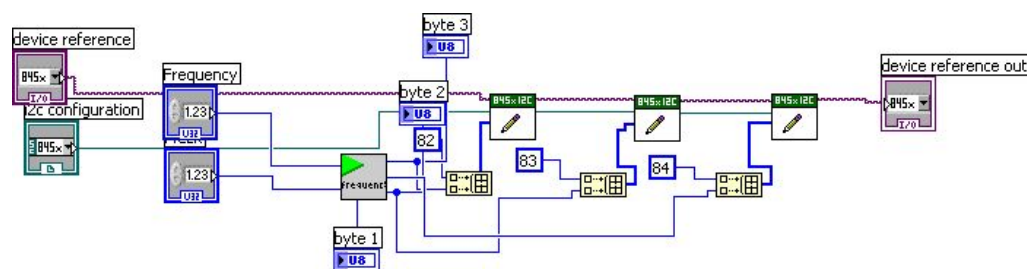


Fig. 8.7 Diagrama per programar la freqüència inicial.

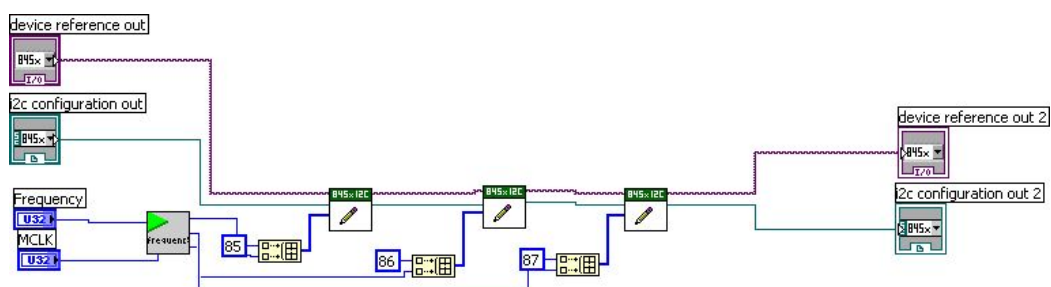


Fig. 8.8 Diagrama per programar l'increment de freqüència.

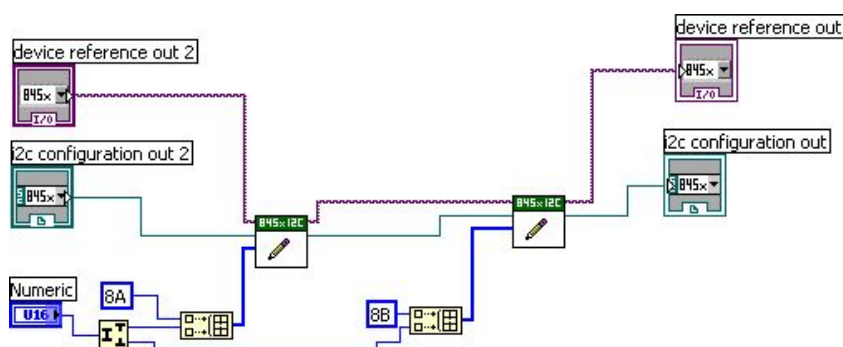


Fig. 8.9 Diagrama per programar el número d'increments.

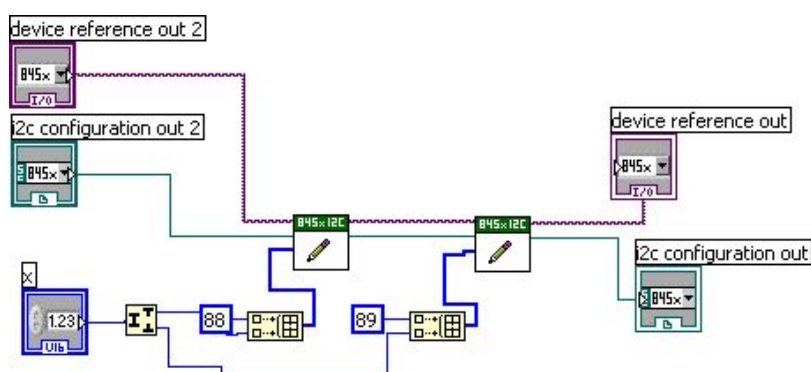


Fig. 8.10 Diagrama per programar el nombre de cicles.

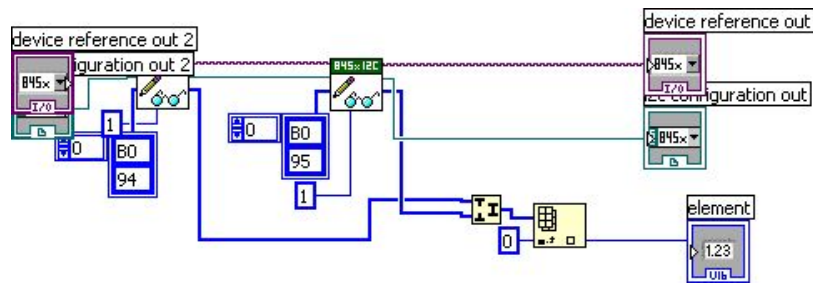


Fig. 8.11 Diagrama que llegeix la part real.

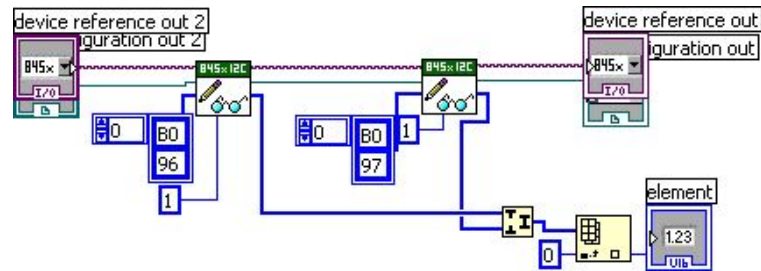


Fig. 8.12 Diagrama per llegir la part imaginària.

8.5. Codis funcions Matlab

Codi pel càlcul de freqüències per l' increment logarítmic

```
n = round(Nincr*log10(FE/FS));
a=log10(FS);
b=log10(FE);
out = logspace(a,b,n);
```

Codi pel càlcul de freqüències per l' increment lineal

```
if FS<100
    if FE <100
        n1 = round(log10(FE/FS)*Nincr)
        out = linspace(FS,FE,n1);
    else
        n1 = round(log10(100/FS)*Nincr)
        out = linspace(FS,100,n1);
        if FE <1000
            n2 = round(log10(FE/100)*Nincr)
            out = [out linspace(100+n1,FE,n2)];
        else
            n2 = round(log10(1000/100)*Nincr)
            out = [out linspace(100+n1,1000,n2)];
            if FE <=10000
                n3 = round(log10(FE/1000)*Nincr)
                out = [out linspace(1000+n2,FE,n3)];
            end
        end
    end
else
    if FS<1000
        if FE <1000
            n2 = round(log10(FE/FS)*Nincr)
            out = linspace(100+n1,FE,n2);
        else
            n2 = round(log10(1000/FS)*Nincr)
            out = linspace(FS,1000,n2);
            if FE <=10000
                n3 = round(log10(FE/1000)*Nincr)
                out = [out linspace(1000+n2,FE,n3)];
            end
        end
    elseif FS <10000
        if FE <=10000
            n3 = round(log10(FE/FS)*Nincr)
            out = linspace(FS,FE,n3);
        end
    end
end

nx=size(out);
n=nx(2);
```

Codi de la funció d'ajust a Model

Desenvolupament d'un Sistema d'Espectroscòpia d'Impedàncies per a Mesures amb Biosensors

```
function [ro,ri,alf,fc]=colez2(r,i,f);
%
% Función de cole para impedancias.
% Outputs:
% ro=resistencia cero
% ri=resistencia infinita
% alf=ángulo alfa
% fc=frecuencia central
% ecm=error cuadrático medio
% Inputs:
% r= parte real del vector de impedancias
% i= parte imaginaria del vector de impedancias
%
% Cálculo del centro y el radio de la circunferencia aprox.
%
global mesn kk1 kk2
n=length(f);
for ii=1:4
    for j=1:4
        m(ii,j)=mean(r.^(ii-1).* i.^(j-1));
    end
end
sigmx2=m(3,1)-m(2,1)^2;
sigmxy=m(2,2)-m(1,2)*m(2,1);
sigmy2=m(1,3)-m(1,2)^2;
t1=(-m(4,1)+m(2,1)*m(3,1)-m(2,3)+m(2,1)*m(1,3));
t2=(-m(1,4)+m(1,2)*m(1,3)-m(3,2)+m(1,2)*m(3,1));
t3=sigmx2*sigmy2-sigmxy^2;
a=-0.5*(sigmy2*t1-sigmxy*t2)/t3
b=-0.5*(sigmx2*t2-sigmxy*t1)/t3
radius=mean(sqrt((r-a).^2+(i-b).^2));
%
% Cálculo de ro,ri,alf
%
ro=a+(radius^2-b^2)^0.5;
ri=a-(radius^2-b^2)^0.5;
alf=1-(2/pi)*asin((ro-ri)/(2*radius));
%
% Cálculo de fc
%
u=((r.^2-2*ri.*r+i.^2)+(ri^2)).^0.5;
v=((r.^2-2*ro.*r+i.^2)+(ro^2)).^0.5;
ww=log10(abs(u./v));
p=log10(2*pi*f);
h=polyfit(p,ww,1);
fc=((1/(2*pi))*10^(-h(2)/h(1)))/1000;
%
% Dibujo del arco de cole y los valores medidos
%
xx=[ri:(ro-ri)/100:ro];
yy=(b+(radius^2.-(xx-a).^2).^0.5);
```

Codi pel tractament estadístic del soroll

```
function [m,s]=ETipusA(obs)

clc
%Taula t Student per una probabilitat del 99% i 2 graus de llibertat
tstud=[63.657;9.925;5.841;4.604;4.032;3.707;3.499;3.355;3.250;3.169;
3.106;3.055;3.012;2.977;2.947;2.921;2.898;2.878;2.861;2.845;2.831;
```



```

2.819;2.807;2.797;2.787;2.779;2.771;2.763;2.756;2.750;2.744;2.738;
2.733;2.728;2.724;2.719;2.715;2.712;2.708;2.704;2.701;2.698;2.695;
2.692;2.690;2.687;2.685;2.682;2.68;2.678;2.676;2.674;2.672;2.670;
2.668;2.667;2.665;2.663;2.662;2.660;2.659;2.657;2.656;2.655;2.654;
2.652;2.651;2.650;2.649;2.648;2.647;2.646;2.645;2.644;2.643;2.642;
2.641;2.640;2.640;2.639;2.638;2.637;2.636;2.636;2.635;2.634;2.634;
2.633;2.632;2.632;2.631;2.630;2.630;2.629;2.629;2.628;2.627;2.627;
2.626;2.626;2.576];

```

```

obst=obs(:);
n=length(obst);

```

```
%eliminar observacions aberrants test de Grubb
```

```

fi = 0;
while (fi == 0)
    m1=(1/n)*sum(obst);
    s1=sqrt(sum((obst-m1).^2)/(n-1));

    [G,i]=max(obst-m1);
    G=G/s1;

    if n>=100
        j=101;
    else
        j=n-2;
    end
    Gcrit=((n-1)/sqrt(n))*sqrt(tstud(j)^2/((n-2)+tstud(j)^2));
    if G>Gcrit
        %eliminar valor obst
        obst(i)=[];
    else fi=1;
    end
    n=length(obst);
end

```

```

obsnet=obst;
figure
histfit(obsnet);

```

```
%Càlcul de mitjana i variància
```

```

obsf=obsnet;
n=length(obsf);

m=(1/n)*sum(obsf);
s=sqrt(sum((obsf-m).^2)/(n*(n-1)));
k=2.6;
s=k*s;

```

8.6. Imatges dels histogrammes de soroll per cada freqüència

Per la configuració sense polarització

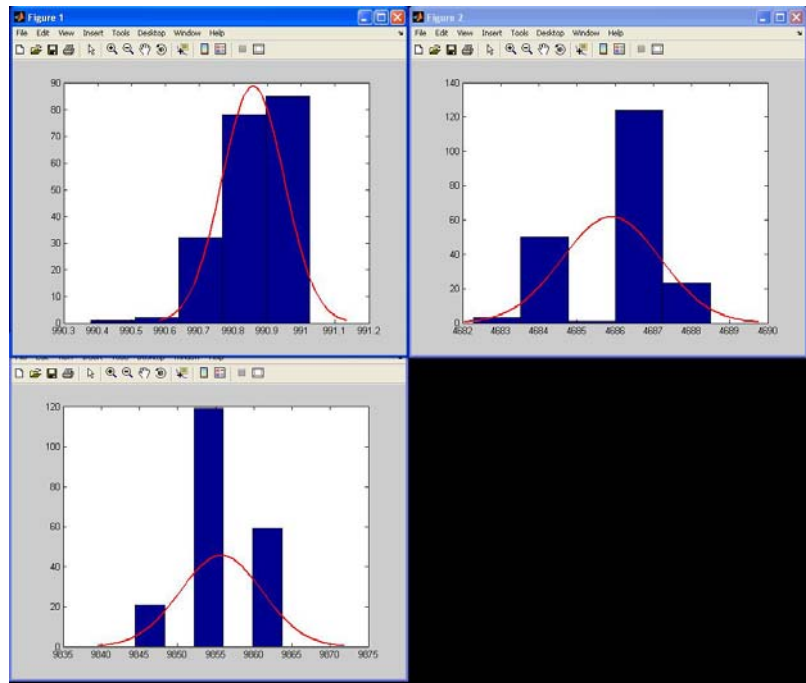


Fig. 8.13 Histograma per la freqüència de 20 Hz.

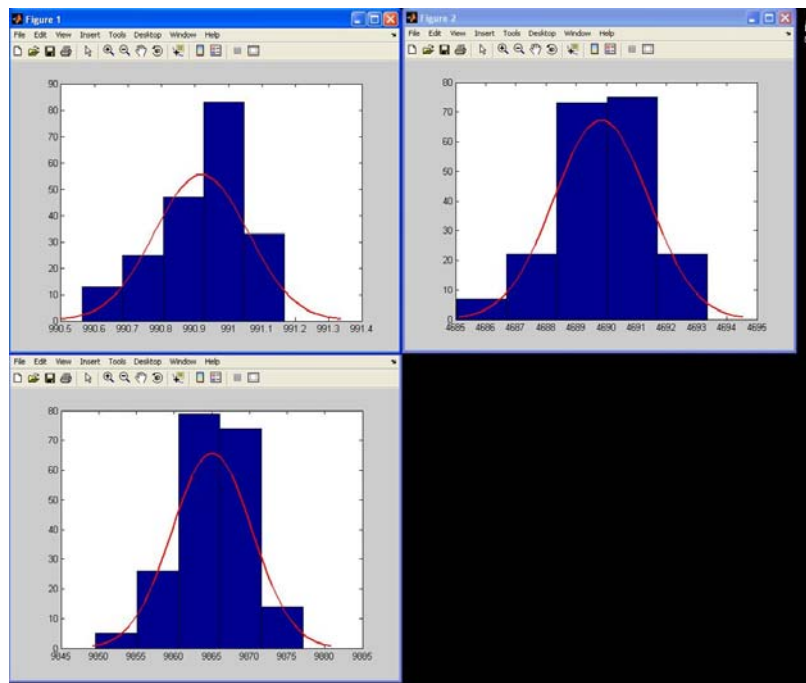


Fig. 8.14 Histograma per la freqüència de 500 Hz.

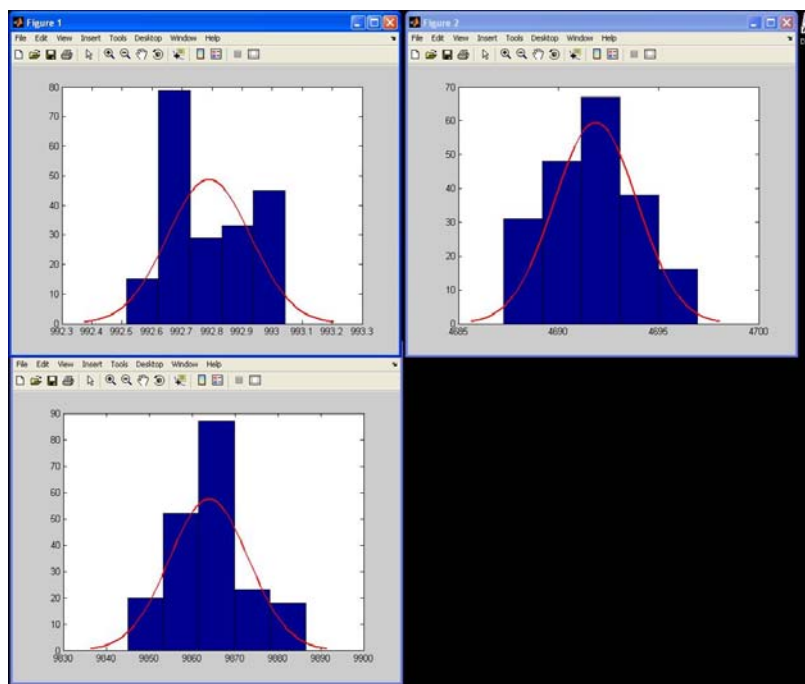


Fig. 8.15 Histograma per la freqüència de 1000Hz.

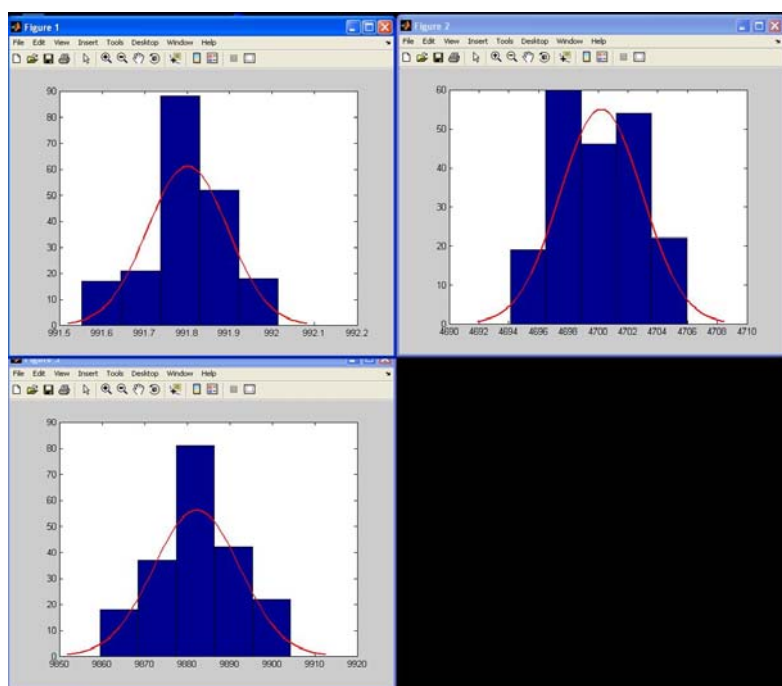


Fig. 8.16 Histograma per la freqüència de 5000 Hz.

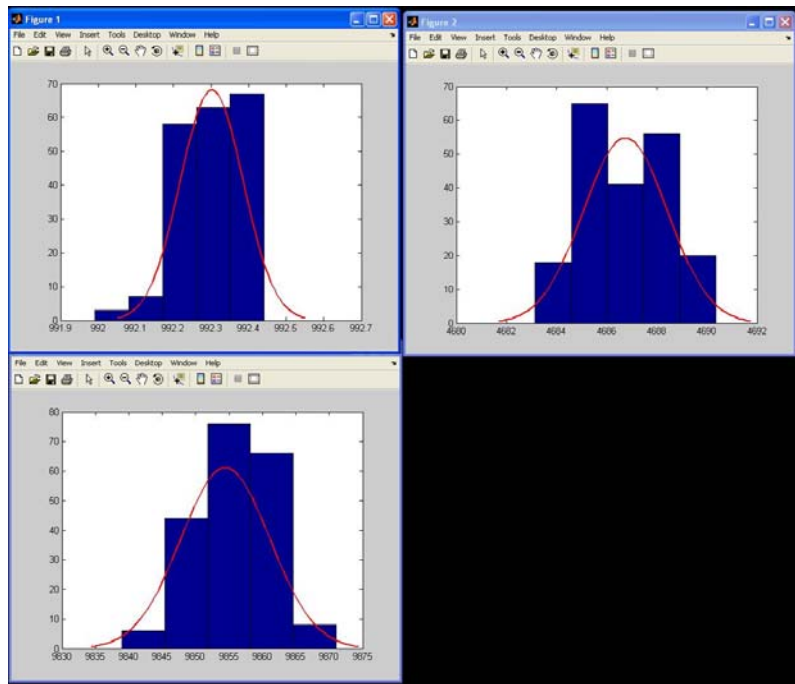


Fig. 8.17 Histograma per la freqüència de 10000 Hz.

Per la configuració amb polarització

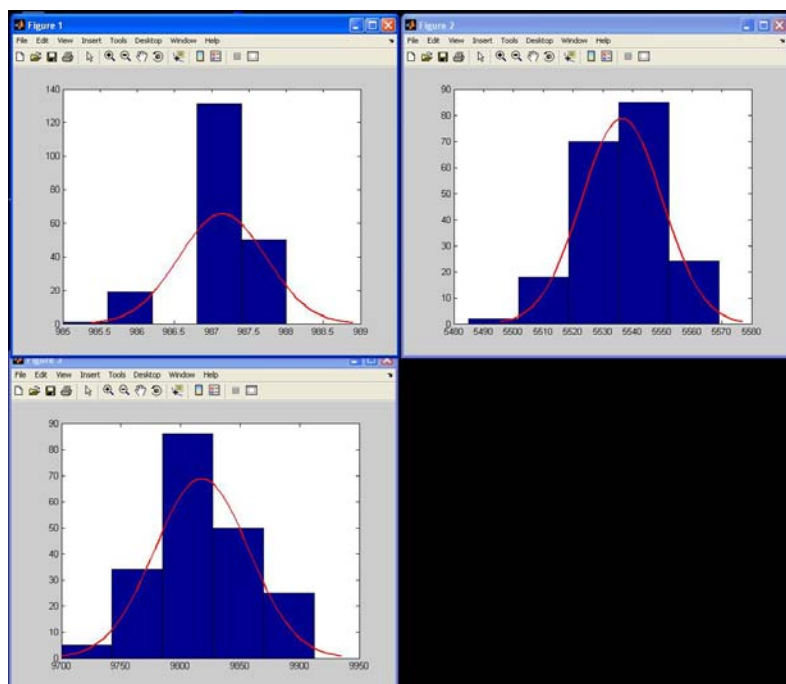


Fig. 8.18 Histograma per la freqüència de 20 Hz

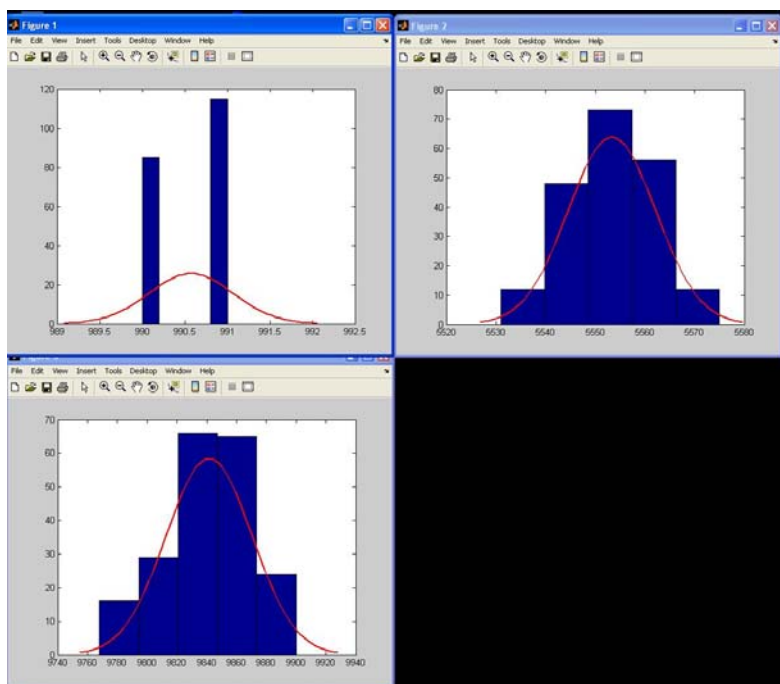


Fig. 8.19 Histograma per la freqüència de 500 Hz

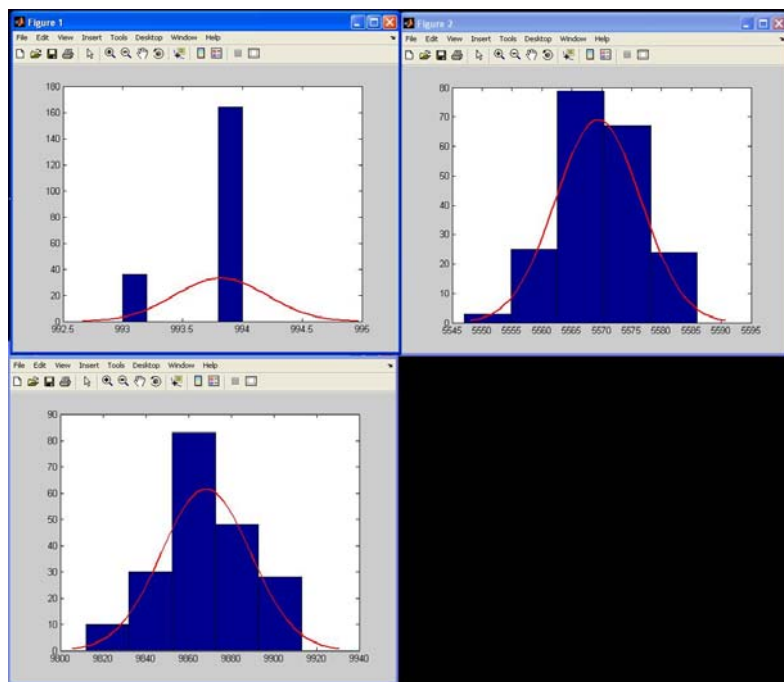


Fig. 8.20 Histograma per la freqüència de 1000 Hz

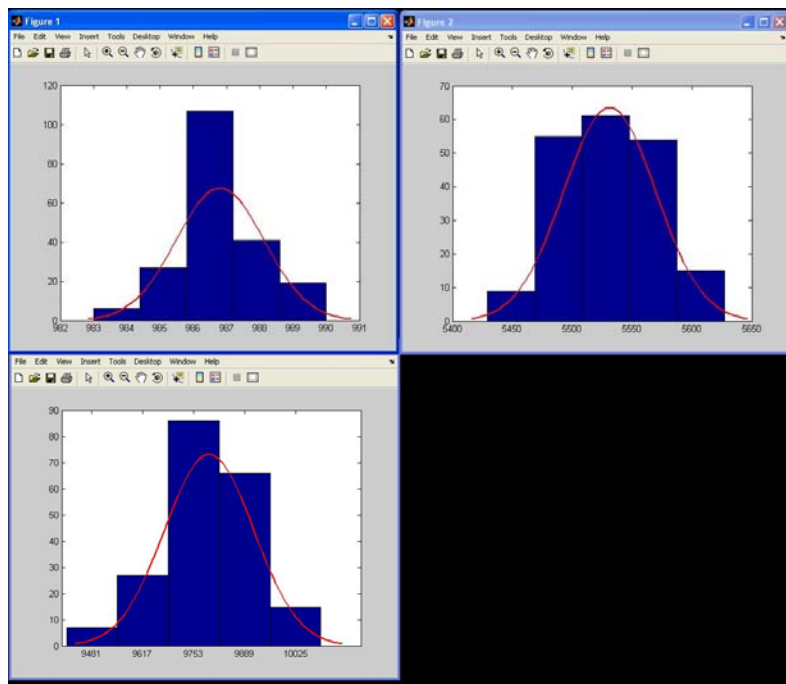


Fig. 8.21 Histograma per la freqüència de 5000 Hz

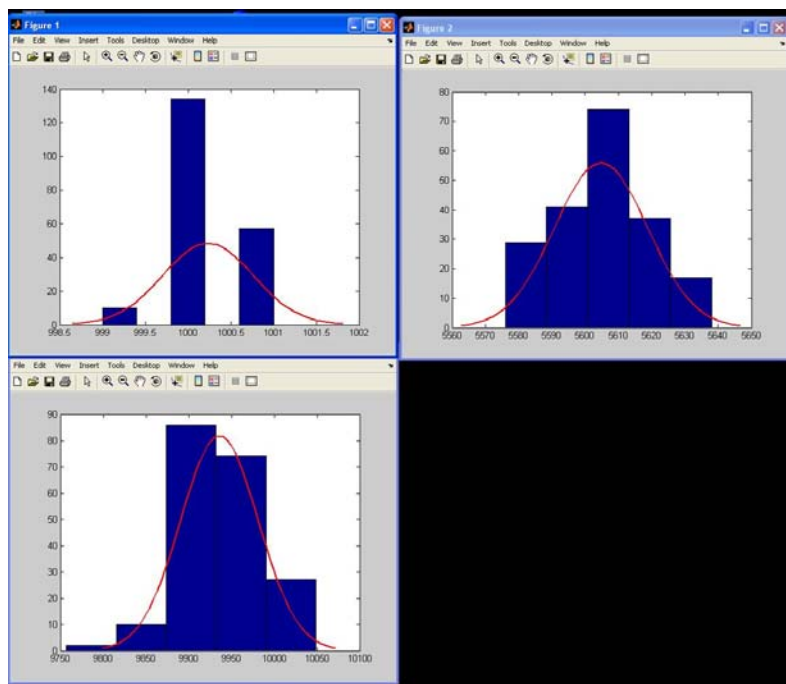


Fig. 8.22 Histograma per la freqüència de 10000 Hz

8.7. Selecció de l'Amplificador Operacional

Degut a les característiques de disseny del sistema, existeix la necessitat d'utilitzar amplificadors operacionals específics. Aquests han de complir:

- Baix soroll
- BW elevat
- Sortida Rail-to-Rail
- Estabilitat a Guany 1
- Baix corrent de bias
- Alimentació asimètrica a 5 V.

S'han escollit cinc integrats de diferents fabricants que compleixen la majoria de les especificacions requerides. Per poder obtenir un guany de 100, que correspondrà al màxim necessari, en tot el rang freqüencial del sistema, s'ha comprovat quin és el guany màxim que es pot assolir per una freqüència de 10 kHz per cada amplificador. A la taula següent es mostren les seves característiques.

	V _n (nV/VHz)	I _b (pA)	V _{io} (mV)	GBW (MHz)	Rail-to-Rail	G (10kHz)
TLC2201	30	1	0.5	1.8	Out	≈45
LMP7707	9	0.7	0.2	14	In/Out	≈60
LMV796	5.8	1	0.1	17	Out	≈60
AD8655	2.7	1	0.25	28	In/Out	≈65
AD8671	2.8	1200	0.075	10	Out	≈60
AD8651	4.5	1	0.1	50	Out	≈70

Taula 8.2 Taula d'Amplificadors Operacionals seleccionats.

Per tal de verificar la resposta dels amplificadors es van realitzar una sèrie de simulacions per veure la resposta freqüencial. Les següents figures mostren les simulacions realitzades.

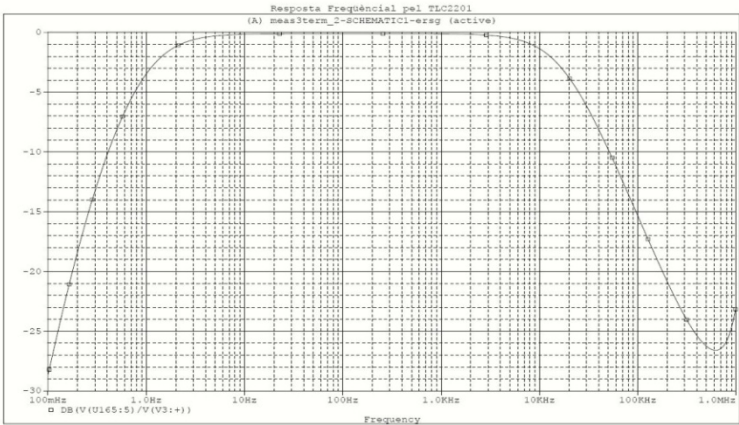


Fig. 8.23 Resposta freqüencial pel TLC2201.

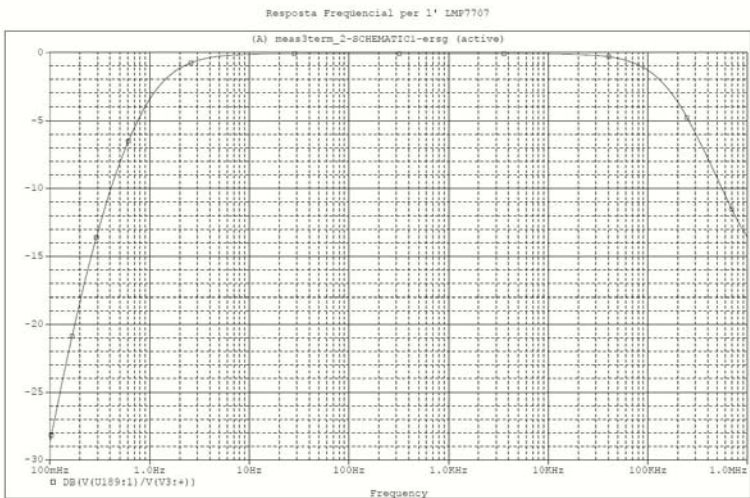


Fig. 8.24 Resposta freqüencial pel LMP7707.

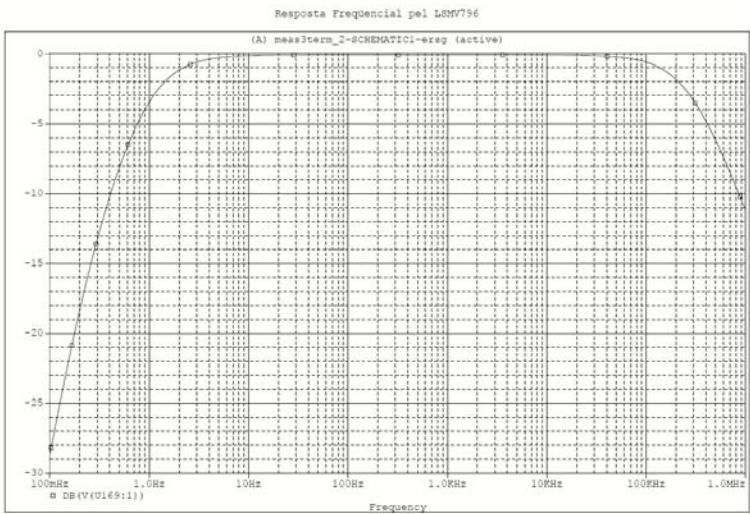


Fig. 8.25 Resposta freqüencial i de soroll pel LMV796.

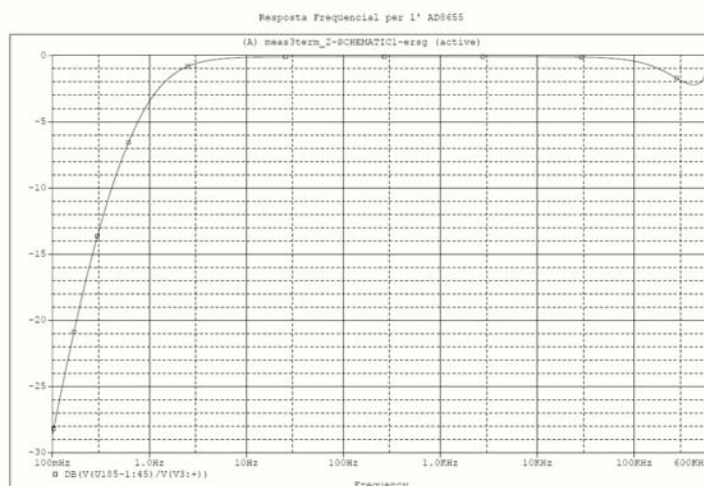


Fig. 8.26 Resposta frequencial i de soroll per l'AD8655.

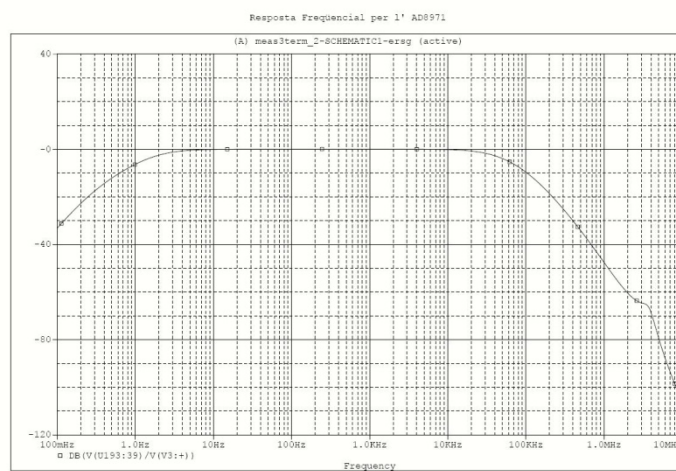


Fig. 8.27 Resposta frequencial i de soroll per l'AD8671.

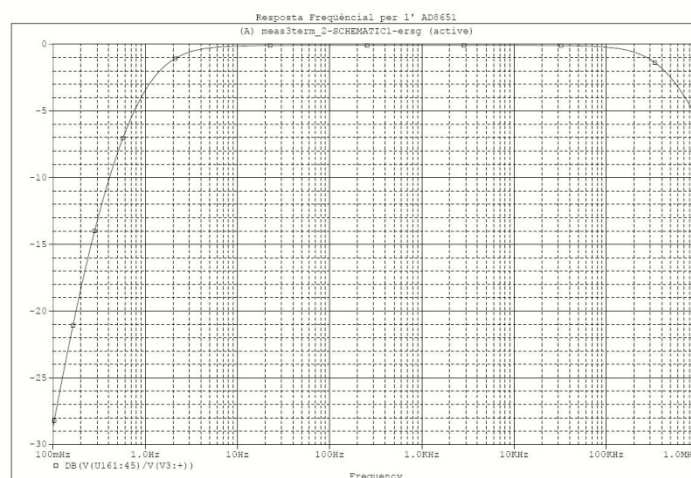


Fig. 8.28 Resposta frequencial i de soroll per l'AD8651.

Desenvolupament d'un Sistema d'Espectroscòpia d'Impedàncies per a Mesures amb Biosensors

De les gràfiques es poden descartar dos dels cinc operacionals: el primer és el TLC2201, ja que presenta un ample de banda de treball massa just, encara que correcte; per una altra banda està l'AD8671, que té un corrent de bias massa elevat comparat amb la resta com es pot veure a la taula 8.2.

El següent pas ha estat realitzar una comprovació física de les simulacions. Per tant, s'ha fabricat un front-end per provar els diferents amplificadors de forma real. Les proves s'han fet amb tres dels quatre operacionals restants, aquests són el LMV796, l'AD8655 i l'AD8651.

L'experiment consisteix en realitzar la mesura d'una resistència en tot l'ample de banda de treball, 10 Hz fins a 10 kHz, i comprovar la resposta a partir de la seva representació.

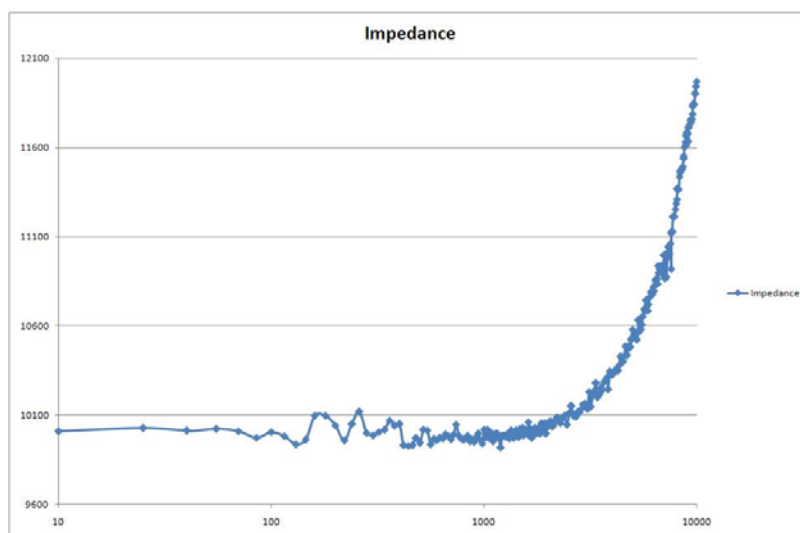


Fig. 8.29 Representació d'una mesura en tot el rang de freqüències per LMV796.

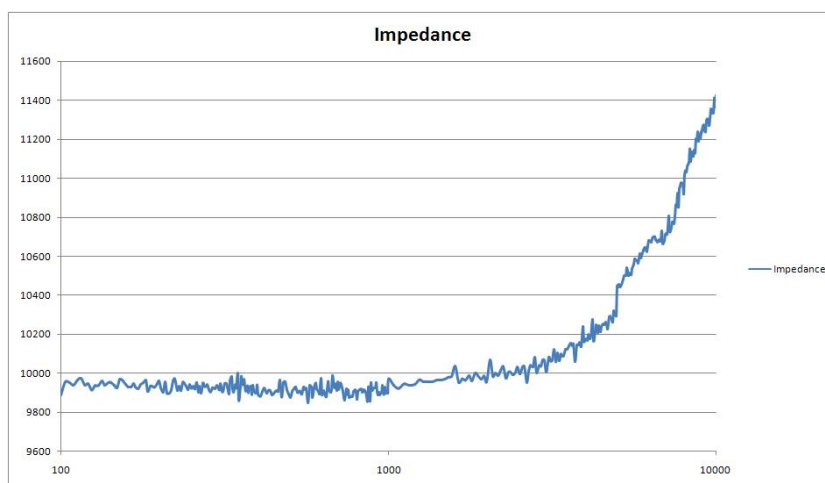


Fig. 8.30 Representació d'una mesura en tot el rang de freqüències per l'AD8655.

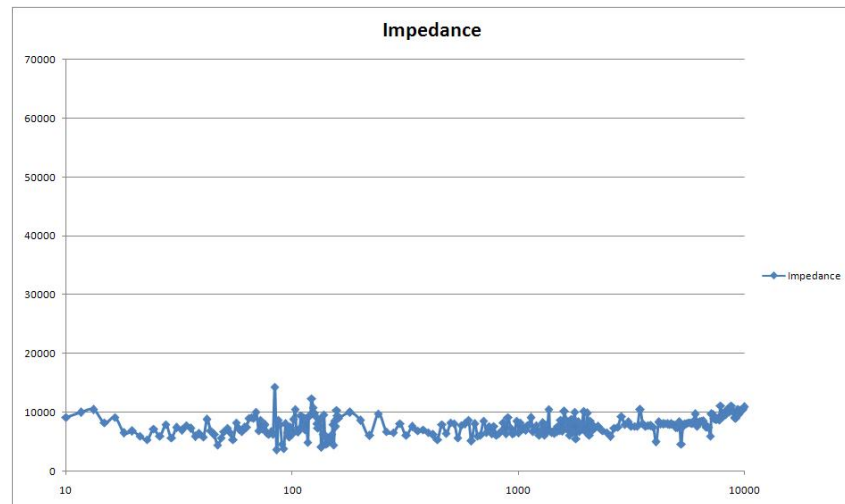


Fig. 8.31 Representació d'una mesura en tot el rang de freqüències per l'AD8651.

De les representacions anteriors es veu com per a baixes freqüències tots els operacionals tenen una bona resposta, donant un valor pla. Però pel cas del LMV796 i l'AD8655, es veu com a mesura que augmenta la freqüència intervé la resposta física de l'amplificador operacional, afegint un error sistemàtic en la mesura. Això es degut a que la resposta en freqüència de l'operacional influeix en la mesura, degut a una subestimació del corrent, apareixen la cua per a freqüències altes. Aquest error sistemàtic es pot corregir, però es millor no escollir aquesta opció ja que la cua pot presentar derives.

Com a conclusió es determina que l'amplificador operacional escollit és l'AD8651.

8.8 Implementació física

En aquest annex es mostren fotos de la implementació física de la placa final. El disseny del layout amb Orcad es va enviar a l'empresa 2cisa per la seva fabricació. Les principals característiques de la placa són:

- Mida: 89 x 74 cm
- Capes: 2
- SMD: Sí
- Material: FR4
- Gruix: 1,6 mm
- Cobre final: 35 µm
- Acabat: Flash Or

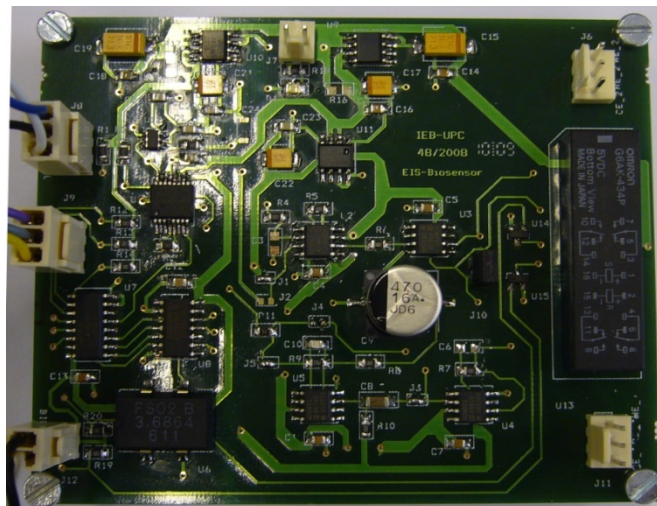


Fig. 8.32 Realització física del sistema.

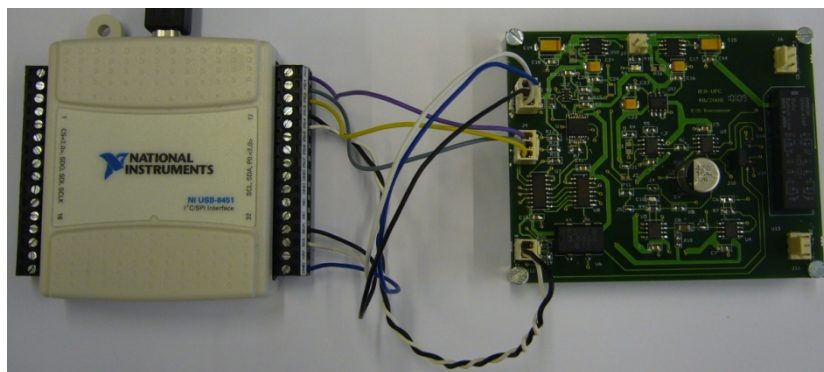


Fig. 8.32 Connexió de la placa i la interfície USB-SPI/I2C